

ОТ РОЖДЕНИЯ ДО АКТИВНОГО ДОЛГОЛЕТИЯ

**Сборник тезисов докладов
II Международного форума геномных
и биомедицинских технологий**



ХАНТЫ-МАНСИЙСКИЙ АВТОНОМНЫЙ ОКРУГ – ЮГРА

БУ ВО «СУРГУТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ОТ РОЖДЕНИЯ ДО АКТИВНОГО ДОЛГОЛЕТИЯ

**Сборник тезисов докладов
II Международного форума геномных и биомедицинских технологий
г. Сургут, 30 ноября – 2 декабря 2023 г.**

**Сургут
Издательский центр
2024**

УДК 61(063)
ББК 5я43
О-80

О-80 **От рождения до активного долголетия** : сборник / науч. ред. д-р биол. наук Д. А. Грядунов ; тезисы докладов II Международного форума геномных и биомедицинских технологий. г. Сургут, 30.11.2023–02.12.2023 ; Сургут. гос. ун-т, – Сургут : ИЦ СурГУ, 2024. – 52 с.
ISBN 978-5-89545-561-6

В сборнике представлены тезисы докладов участников II Международного форума геномных и биомедицинских технологий, проходившего в Сургутском государственном университете с 30 ноября по 2 декабря 2023 г. Цель форума – обобщить достижения и перспективы в области развития инфраструктуры биомедицины и генетики, инновационных методов диагностики, лечения и профилактики наследственных и мультифакторных заболеваний, перинатальной медицины и подготовки медицинских кадров нового поколения.

Сборник предназначен для ученых и специалистов, работающих в указанных областях наук, аспирантов и студентов высших учебных заведений соответствующих специальностей.

УДК 61(063)
ББК 5я43

ISBN 978-5-89545-561-6

© БУ ВО «Сургутский государственный университет», 2024

Организаторы
II Международного форума геномных и биомедицинских технологий
«От рождения до активного долголетия»:

Правительство Ханты-Мансийского автономного округа – Югры
Фонд научно-технологического развития Ханты-Мансийского автономного округа – Югры
БУ ВО «Сургутский государственный университет»

Редакционная коллегия:

Глотов Андрей Сергеевич – доктор биологических наук, руководитель отдела геномной медицины Научно-исследовательского института акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта, заведующий лабораторией биобанкинга и геномной медицины Института трансляционной биомедицины, вице-президент Национальной ассоциации биобанков и специалистов по биобанкированию, член правления Российского общества медицинских генетиков

Глотов Олег Сергеевич – доктор биологических наук, заведующий отделом вирусологии и молекулярно-биологических методов исследований Детского научно-клинического центра инфекционных болезней федерального медико-биологического агентства, старший научный сотрудник отдела геномной медицины Научно-исследовательского института акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта

Грядунов Дмитрий Александрович – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией технологий молекулярной диагностики Института молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН

Закиян Сурен Минасович – доктор биологических наук, профессор заведующий лабораторией эпигенетики развития Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики СО РАН, лабораторией молекулярной и клеточной медицины Национального медицинского исследовательского центра им. акад. Е. Н. Мешалкина, главный научный сотрудник лаборатории геномных медицинских технологий Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

Коваленко Людмила Васильевна – доктор медицинских наук, профессор директор Медицинского института, заведующая кафедрой патофизиологии и общей патологии Сургутского государственного университета

Колбасин Лев Николаевич – кандидат медицинских наук, врач-генетик, заведующий медико-генетической консультации БУ «Сургутский окружной центр охраны материнства и детства», главный внештатный специалист по медицинской генетике Департамента здравоохранения Ханты-Мансийского автономного округа – Югры

Некрасов Вячеслав Лазаревич – кандидат исторических наук, заместитель генерального директора по науке Фонда научно-технологического развития Ханты-Мансийского автономного округа – Югры

Пчелина Софья Николаевна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией молекулярной генетики человека Петербургского института ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», руководитель отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова.

СОДЕРЖАНИЕ

Раздел I СОВРЕМЕННЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В НАУКЕ И МЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ

<i>Ерофеев А. С., Горелкин П. В., Колесов Д. В., Корчев Ю. Е.</i> Сканирующая ион-проводящая микроскопия для биомедицинских приложений	8
<i>Колесов Д. В., Вишнякова П. А., Макарова Н. П., Московцев А. А., Чернышев В. С.</i> Микрофлюидика для вспомогательных репродуктивных технологий	9
<i>Моисеев И. С., Лепик К. В., Шакирова А. И., Попова М. О.</i> Развитие технологии генотерапевтических продуктов в Российской Федерации	10
<i>Рубцов Н. Б.</i> Персональные геномы: что это такое в базах данных и в реальности	11

Раздел II ИСКУССТВЕННЫЙ ИНТЕЛЛЕКТ И ТРАНСЛЯЦИОННАЯ МЕДИЦИНА: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ПРАКТИКА

<i>Васюченко Е. П.</i> Поиск молекулярных мишеней новых лекарственных препаратов с помощью искусственного интеллекта	12
<i>Вяткин Ю. В.</i> Приложения искусственного интеллекта в задачах анализа данных молекулярной онкологии и медицинской генетики	13
<i>Ермаков А. С.</i> Проблема интегральности живых систем и современная механобиология	14
<i>Минин А. Р.</i> Применение ИИ и результатов молекулярно-генетического тестирования для диагностики дефектов костей и суставов	15
<i>Раменский В. Е.</i> Применение искусственного интеллекта для предсказания клинического и молекулярного эффекта вариантов генома	16
<i>Сазиков Р. С., Тунян Э. Г.</i> Применение искусственного интеллекта для предсказания уровня глюкозы в крови у людей с аутоиммунным заболеванием сахарный диабет 1 типа	17

Раздел III МИКРОБИОМ ЧЕЛОВЕКА

<i>Беспярых Ю. А., Калачнюк Т. Н., Жгун Е. С., Господарик А. В.</i> Трансплантация фекальной микробиоты: от теории к практике	19
<i>Гимранова И. А., Акмалова Г. М., Швец Д. Ю., Газизуллина Г. Р., Азнагулов А. А.</i> Характеристика оральной микробиоты у пациентов с пародонтитом в постковидный период	20

<i>Кожухметов С. С.</i> Микробиота кишечника и ее функциональные характеристики при младенческих коликах ...	21
<i>Кушугулова А. Р.</i> Новый взгляд на последствия коронавирусной инфекции: микробиомные и цитокиновые паттерны постковидного синдрома	23
<i>Швец Д. Ю., Шангареева З. А., Газизуллина Г. Р., Гимранова И. А.</i> Влияние кишечной микробиоты на распространенность ожирения и связанных с ним заболеваний у детей	24

Раздел IV
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АУТОИММУННЫХ
И ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

<i>Биктимиров Т. Р., Шидин В. А., Янин В. Л., Карпова Я. А., Тагирова А. С.</i> Культирование опухолевых клеток рака яичника человека <i>in vivo</i>	26
<i>Вишнякова П. А., Ганцова Е. А., Киселева В. В., Арутюнян И. В., Хан И. И., Покровский В. С., Дашинимаев Э. Б., Ельчанинов А. В., Фатхудинов Т. Х.</i> Макрофаги с устойчивым антиопухолевым профилем для терапии рака груди	27
<i>Клёсова Е. Ю., Петрухина И. Ю., Азарова Ю. Э., Полоников А. В.</i> Ассоциации полиморфных вариантов гена белка теплового шока <i>DNAJB1</i> с риском развития сахарного диабета 2 типа	28
<i>Пономарева А. А., Щеголева А. А., Гервас П. А., Геращенко Т. С., Панкова О. В., Ершов Н. И., Перельмутер В. М., Чердынцева Н. В., Денисов Е. В.</i> Анализ метилома различных форм предопухолевых изменений бронхиального эпителия посредством полногеномного бисульфитного секвенирования	29
<i>Соколова В. В., Кулагина Е. В., Грядунов Д. А., Савватеева Е. Н.</i> Разработка методики мультиплексного анализа на основе специализированного гидрогелевого биочипа с одновременным определением индекса avidности аутоантител к антигенам ткани щитовидной железы	30

Раздел V
ГЕНЕТИКА НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
И ПСИХИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ

<i>Башарова К. С., Безрукова А. И., Григорьева Е. В., Байдакова Г. В., Павлова С. В., Милыхина И. В., Захарова Е. Ю., Пчелина С. Н., Усенко Т. С.</i> Ингибирование киназной активности LRRK2 восстанавливает функцию глюкоцереброзидазы, но не влияет на уровень общего альфа-синуклеина в пациент-специфичных клетках при болезни Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене <i>GBA1</i> и <i>LRRK2</i>	32
<i>Вялова Н. М., Михалицкая Е. В.</i> Полиморфные варианты гена <i>BDNF</i> при аффективных расстройствах	33
<i>Захарян Р., Авагян С., Биндер Г., Аракелян А.</i> Динамика бифуркаций экспрессии функциональных генных модулей при психиатрических заболеваниях	34

<i>Зоркина Я. А.</i> Иммунологические маркеры когнитивного снижения и деменции	35
<i>Капитошина Е. В.</i> Создание клеточной модели для изучения вклада лейциновой киназы LRRK2 в развитие окислительного стресса	36
<i>Копытова А. Э., Журавлев А. С., Усенко Т. С., Безрукова А. И., Байдакова Г. В., Николаев М. А., Лавринова А. О., Тимофеева А. А., Милюхина И. В., Захарова Е. Ю., Емельянов А. К., Пчелина С. Н.</i> Активность глюкоцереброзидазы и уровень альфа-синуклеина в крови пациентов с болезнью Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене <i>GBA1</i>	37
<i>Меднова И. А., Пожидаев И. В., Тигунцев В. В., Падерина Д. З., Бойко А. С., Федоренко О. Ю., Корнетова Е. Г., Иванова С. А.</i> Ассоциативный анализ полиморфных вариантов гена адаптерного белка синтазы оксида азота-1 с метаболическим синдромом у больных шизофренией	38
<i>Морозова И. О.</i> Современные классификационные системы для диагностики болезни Альцгеймера	39
<i>Николаев М. А., Рычков Г. Н., Копытова А. Э., Белых Е. А., Изюмченко А. Д., Пчелина С. Н., Емельянов А. К.</i> Новые потенциальные фармакологические шапероны глюкоцереброзидазы: виртуальный скрининг и оценка эффективности восстановления активности на первичной культуре макрофагов человека	40
<i>Пчелина С. Н.</i> Генетическое тестирование болезни Паркинсона: вопросы актуальности внедрения в клиническую практику	41
<i>Савенкова В. И.</i> Генетические предикторы шизофрении	42
<i>Федосеева Е. Д., Иконникова А. Ю., Емельянова М. А., Антонова О. В., Филиппова М. А., Юрасов Р. А., Сюняков Т. С., Зоркина Я. А., Абрамова О. В., Андреюк Д. С., Очнева А. Г., Павлов К. А., Савилов В. Б., Соловьёва К. П., Курмышев М. В., Карпенко О. А., Андрющенко А. В., Костюк Г. П., Морозова А. Ю., Грядунов Д. А.</i> Полигенные модели риска развития болезни Альцгеймера: первая валидация в российской популяции с использованием гидрогелевого биочипа	43
<i>Яркова Е. С.</i> Влияние варианта р.N370S в гене <i>GBA1</i> на молекулярный фенотип болезни Паркинсона	44

Раздел VI ГЕНЕТИКА В РЕПРОДУКТОЛОГИИ

<i>Матвеева В. А., Артемьева Л. В., Селедцова Н. В., Морозов В. В.</i> Восстановление фертильности мышей с поврежденным эндометрием матки экзосомами эндометриальных мезенхимальных стволовых клеток	46
<i>Сайфитдинова А. Ф.</i> Современное генетическое сопровождение вспомогательных репродуктивных технологий ...	47

Раздел VII
ГЕНЕТИКА В КАРДИОЛОГИИ

<i>Драчева К. В., Кусакин А. В., Изюмченко А. Д., Глотов О. С., Пчелина С. Н., Мирошникова В. В.</i>	
Экзомное секвенирование для генетической диагностики семейной гиперхолестеринемии	48
<i>Карпова Н. С., Нурбеков М. К., Дмитренко О. П., Терехина О. Л.</i>	
Путь от поиска генетической предрасположенности к развитию заболеваний до разработки терапии	49
<i>Мирошникова В. В., Пчелина С. Н.</i>	
Геномные исследования для диагностики дислипидемий	50

Раздел I
СОВРЕМЕННЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ
В НАУКЕ И МЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ

Сканирующая ион-проводящая микроскопия для биомедицинских приложений

Ерофеев А. С., Горелкин П. В., Колесов Д. В., Корчев Ю. Е.
г. Москва, Национальный исследовательский
технологический университет «МИСиС»,
erofeev.as@misis.ru
г. Москва, Московский политехнический университет,
dmitry.v.kolesov@gmail.com

Введение. Основной причиной отказа от испытуемых препаратов на поздней стадии клинических исследований является их слабая эффективность. Переход исследований на уровень единичных клеток может значительно ускорить и удешевить процесс разработки новых препаратов. Современная сканирующая ион-проводящая микроскопия позволяет получать не только топографические изображения живых клеток с высоким разрешением, но также осуществлять количественную доставку молекул на поверхность живых клеток, определять локальные механические свойства и изучать распределение внутри и внеклеточных метаболитов.

Материалы и методы. Ключевой элемент сканирующей ион-проводящей микроскопии (СИПМ) – нанокапилляр – может быть использован в качестве наноразмерного сенсора. На основе нанокапилляра разработан pH-чувствительный сенсор, который содержит самоорганизующуюся цвиттерионоподобную наномембрану на конце. При использовании таких зондов в СИПМ возможно осуществлять точное позиционирование нанозонда на поверхности клетки с помощью обратной связи для мониторинга локального pH с высоким пространственно-временным разрешением и высокой чувствительностью. В основе разработки – сшивание глюкозооксидазы и поли-L-лизина на конце стеклянного нанокапилляра. Чувствительность такого зонда составляет выше 0,01 единицы, сенсор имеет быструю скорость отклика (до ~ 2 мс) и высокое пространственное разрешение (~ 50 нм).

Результаты. Зонды на основе нанокапилляров имеют большие перспективы в качестве внутриклеточных биосенсоров. Создана технология производства углеродных нанозондов на основе кварцевых нанокапилляров, радиус которых может варьироваться в диапазоне 5–200 нм. Функционализация нанозонда платиной позволила контролировать потребление кислорода снаружи и внутри клетки меланомы. Эти новые платиновые нанозонды пригодны в исследованиях клеточного метаболизма кислорода и могут использоваться для изучения окислительно-восстановительных процессов клеток, тканей и организмов.

Созданные нанозонды были применены для измерения внутриклеточных активных форм кислорода (АФК) в культивируемых клетках меланомы, раковых клетках HEK293 и LNCaP. Уровни АФК измеряли *in vivo* внутри опухоли на разной глубине в ответ на доксорубин. Разработан электрохимический метод для определения ионов металлов, в том числе соединений Pt(II) и Cu(II) внутри клеток, сфероидов и опухоли мыши *in vivo* после воздействия лекарственных препаратов.

Выводы. С использованием созданных сенсоров впервые проведено сравнительное исследование существующих и инновационных препаратов на уровне единичных клеток. Исследована кинетика накопления препаратов внутри опухолей и здоровых тканей живых мышечных малоинвазивным методом.

Список литературы

1. Zhang Y. et al. High-resolution label-free 3D mapping of extracellular pH of single living cells // Nature Communications. 2019. No. 10. P. 1–9.
2. Vaneev A. et al. In vitro and in vivo Electrochemical Measurement of Reactive Oxygen Species After Treatment with Anticancer Drugs // Analytical Chemistry. 2020. Vol. 92, No. 92. P. 8010–8014.
3. Vaneev A. et al. In vitro/in vivo Electrochemical Detection of Pt (II) Species // Analytical Chemistry. 2022. Vol. 94, No. 12. P. 4901–4905.

Микрофлюидика для вспомогательных репродуктивных технологий

*Колесов Д. В., Вишнякова П. А., Макарова Н. П., Московцев А. А., Чернышев В. С.
г. Москва, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства,
гинекологии и перинатологии им. акад. В. И. Кулакова,
г. Москва, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии,
dmitry.v.kolesov@gmail.com*

Введение. В последние годы в России наблюдается общее снижение уровня рождаемости, в том числе связанное с проблемой бесплодия. Разработка вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) является одним из величайших изобретений медицины. При этом эффективность как ЭКО, так и ИКСИ составляет 30–40 %. Повышение эффективности данных процедур является актуальной задачей. Микрофлюидика может помочь на всех стадиях проведения процедур ВРТ – от отбора половых клеток до преимплантационной диагностики и культивирования.

Важным фактором для успешного проведения ВРТ является качество используемых сперматозоидов. Существует несколько критериев качества используемого материала, в том числе морфология, подвижность, концентрация, целостность ДНК и др., но не существует универсального. Значительную роль играет субъективный фактор сотрудника лаборатории, выполняющего процедуру. В этой связи микрофлюидный подход может стать объективным критерием и стандартизовать процедуру отбора.

Материалы и методы. Существует несколько факторов, определяющих прохождение сперматозоидов по половым путям в организме женщины. Среди них можно выделить основные движущие силы, задающие направленное движение сперматозоидов – реотаксис, термотаксис, хемотаксис, и другие особенности – вращательный характер движения сперматозоидов или пристеночное плавание. Все они активно имитируются в микрофлюидном формате для отбора наиболее качественных сперматозоидов. После проверки различных конструкций микрофлюидных чипов избран метод имитации термотаксиса как наиболее доступный и не требующий высокой квалификации и сложного оборудования, дающий хорошие результаты.

Результаты. Дальнейшее оплодотворение и культивирование эмбриона также может быть проведено в микрофлюидном формате. Огромное значение на ранних стадиях развития эмбриона имеет контроль микроокружения, в том числе состава среды, температуры, механических напряжений. Микрофлюидный формат позволяет контролировать эти и другие параметры с высочайшей точностью. Кроме того, микрофлюидный чип может иметь конструкцию, позволяющую проводить мониторинг микроокружения с помощью как встроенных датчиков, так и отбора среды с последующим анализом. Неинвазивный характер диагностики снижает риск повреждения эмбриона. Совместное культивирование эмбриона с другими типами клеток, например, эндометрием, что также легко организовать в микрофлюидном формате, может повысить успешность прикрепления эмбриона после переноса в матку. Разрабатывается прибор для автоматизированного культивирования клеток, в том числе эмбрионов в условиях микрофлюидного чипа.

Однако применение микрофлюидики не ограничивается только процедурами экстракорпорального оплодотворения. Важнейшим вопросом является трансплацентарный транспорт лекарственных препаратов и/или инфекций от матери к плоду. Исследование данного механизма должно являться неотъемлемой частью разработки лекарственных препаратов. Однако испытания на людях, по понятным причинам, сильно ограничены. Микрофлюидные модели органов на чипе имеют большие перспективы для доклинических испытаний лекарств – к таким относится и разрабатываемая нами модель «плацента-на-чипе».

Выводы. Микрофлюидика является перспективной технологией для применения во вспомогательных репродуктивных технологиях. Она предоставляет возможности как для практического применения для повышения эффективности ВРТ, так и для фундаментальных исследований и испытаний лекарственных препаратов.

Список литературы

1. Nosrati R., Graham P. J., Zhang B., et al. Microfluidics for Sperm Analysis and Selection // Nature Reviews Urology. 2017. No. 14. P. 707–730.

Развитие технологии генотерапевтических продуктов в Российской Федерации

Мусеев И. С., Летик К. В., Шакирова А. И., Попова М. О.
г. Санкт-Петербург, Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И. П. Павлова

Введение. Генотерапевтические продукты все больше включаются в современные клинические рекомендации и становятся стандартными методами лечения. С внедрением таких технологий появляется много вопросов, включая регуляторные, медицинские, экономические и этические.

Материалы и методы. Проанализированы современные данные о регуляторной базе, применении генотерапевтических продуктов в реальной клинической практике, основных мировых трендах в развитии этого направления. Представлены собственные данные о разработке одного из продуктов – анти-CD19 CAR-T.

Результаты. Представлен краткий обзор имеющихся мишеней и нозологий, которые могут таргетироваться с помощью генной терапии в клетках гемопоэтического ряда. Сформулирован индустриальный и академический подход к производству генотерапевтических продуктов. Представлены данные из зарегистрированных случаев лечения генной терапии в базе данных Европейской Ассоциации по трансплантации костного мозга: проведено лечение более 5 000 пациентов, при этом 95 % из них составляют реципиенты CAR-T-терапии. Приведены данные исследования ZUMA-7 и BELINDA по применению CAR-T во второй линии при диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме с обсуждением различий в результатах этих исследований и их причин. Представлено сравнение долгосрочных результатов генной терапии и аллогенной трансплантации при ADA-SCID.

Выводы. В 2023 г. в Российской Федерации принят закон о госпитальном исключении, позволяющий развивать академические центры генной терапии. Рассмотрены аспекты регистрации в рамках высокотехнологичного лекарственного препарата и биомедицинского клеточного продукта. Представлены собственные результаты доклинической разработки оригинального анти-CD19 CAR-T PGCT-002 с улучшением выживаемости мышей линии NBSGW с моделью В-клеточной опухоли Jurkat. Продемонстрирована выживаемость мышей в этой модели после применения PGCT-002 по сравнению с контролем.

Персональные геномы: что это такое в базах данных и в реальности

Рубцов Н. Б.

*г. Новосибирск, Федеральный исследовательский центр
Института цитологии и генетики СО РАН,
Новосибирский государственный университет,
rubt@bionet.nsc.ru*

Введение. Работы по секвенированию генома человека начались в 1986 г., в 1990 г. был инициирован проект «Геном человека». Решающим в его реализации являлись разработка методов массового параллельного секвенирования и применение стратегии Shotgun. Уже в 2000 г. фирма Celera объявила о подготовке первой сборки генома человека. Развитие новых методов позволяло резко улучшить качество сборки генома и уверенно заполнять существующие в сборке бреши. Уже на этой стадии сборки генома человека эффективно использовались для медико-генетического консультирования. Новые многочисленные методы секвенирования открыли возможности секвенирования персональных геномов и принципиально изменили возможности проведения медико-генетического консультирования. Стало возможно проведение детального доимплантационного тестирования, основанного на анализе индивидуальных клеток, открылись широкие возможности для пренатальной диагностики, диагностики при онкологических заболеваниях. Широкое внедрение геномных технологий привело к переименованию номенклатуры хромосом человека. Она была переименована из An International System for Human Cytogenetic Nomenclature в An International System for Human Cytogenomic Nomenclature.

Материалы и методы. Представлен собственный опыт использования сборок генома и цитогеномных методов при диагностике хромосомных патологий человека. Рассмотрены различия геномных сборок и последствия использования разных сборок: GRCh19 и GRCh38.p13, первая из которых обычно используется при проведении сравнительной геномной гибридизации на микрочипах, а вторая, помимо сборки T2T-CHM13, является на данный момент наиболее полной сборкой генома человека.

Результаты. Консорциум «От теломеры до теломеры» (T2T-Consortium), включающий 54 института из разных стран, представил в 2022 г. полную сборку всех аутосом и X-хромосомы от теломеры до теломеры. Она основана на сборке генома клеток «гаплоидной» культуры CHM13, потерявшей материнские хромосомы, что позволило снять проблему отличия ДНК разных копий гомологичных хромосом.

Вывод. Существующие сборки генома представляют собой, в лучшем случае, конкретный гаплоидный геном, в то время как персональные геномы поражают своим разнообразием. Это дало основание ряду исследователей утверждать, что «a single reference genome is inadequate for many purposes». Существует необходимость создания пан-генома человека, его представления и использования.

Список литературы

1. Wen-Wei L., et al. A draft human pangenome reference // *Nature*. 2023. No. 617. P. 312–324.
2. Computational Pan-Genomics Consortium. Computational pan-genomics: status, promises and challenges // *Brief. Bioinform.* 2018. No. 19. P. 118–135.
3. Sherman R. M., Salzberg S. L. Pan-genomics in the human genome era // *Nature Reviews Genetics*. 2020. No. 21. P. 243–254.
4. Mallick S., et al. The Simons Genome Diversity Project: 300 genomes from 142 diverse populations // *Nature*. 2016. No. 538. P. 201–206.
5. Karamysheva T. V., et al. The Precise Breakpoint Mapping in Paracentric Inversion 10q22.2q23.3 by Comprehensive Cytogenomic Analysis, Multicolor Banding, and Single-Copy Chromosome Sequencing // *Biomedicines*. 2022. No. 10. P. 3255.

Раздел II
**ИСКУССТВЕННЫЙ ИНТЕЛЛЕКТ И ТРАНСЛЯЦИОННАЯ МЕДИЦИНА:
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ПРАКТИКА**

**Поиск молекулярных мишеней новых лекарственных препаратов
с помощью искусственного интеллекта**

Васюченко Е. П.
г. Москва, Институт искусственного интеллекта МГУ,
e.vasyuchenko@iai.msu.ru

Введение. Болезнь Паркинсона является социально значимым заболеванием, эффективное лечение которого в настоящее время отсутствует. Наиболее распространенной формой терапии остается применение препарата «Леводопа» (дигидроксифенилаланин), являющегося предшественником дофамина. Однако не все разновидности болезни Паркинсона отвечают на такую терапию, а у многих пациентов развивается резистентность к данному препарату. На сегодняшний день остро стоит проблема поиска новых препаратов для облегчения симптомов болезни и повышения уровня жизни людей, подверженных этой болезни.

Недавно исследовательская группа Новосибирского института органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН совместно с ИФАВ РАН обнаружила малые молекулы на основе диолов, способные нейтрализовать последствия модели болезни Паркинсона на мышцах. Модели основаны на введении токсинов, блокирующих I комплекс дыхательной цепи митохондрий, что в свою очередь приводит к окислительному стрессу клеток дофаминовых нейронов в черной субстанции мозга. Действие этих соединений не только снимало симптоматику болезни Паркинсона, но и приводило к выживанию и нормальному функционированию дофаминовых нейронов. Несмотря на столь впечатляющие результаты неизвестно, какие белковые молекулы являлись мишенями для данных препаратов. В настоящей работе предложен подход к поиску потенциальных белковых мишеней новых лекарственных препаратов, основанный на применении нейронных сетей в сочетании с классическими методами молекулярного докинга.

Материалы и методы. Отобрано 69 белков, для которых показана ассоциация с болезнью Паркинсона. Структуры белков были получены из открытой базы данных PDB Database (<https://www.rcsb.org>). В случае если для белка не была известна кристаллическая структура, использовали структуру, предсказанную AlphaFold2 из базы данных UniProt (<https://www.uniprot.org>). Для поиска потенциальных мишеней применяли метод на основе диффузионной генеративной нейронной модели DiffDock, позволяющий достаточно быстро провести скрининг белковых структур и малых молекул для поиска белков, способных связывать данные соединения.

Результаты. Определены структуры белков, для которых был найден потенциальный центр связывания, использующийся далее для проведения классического докинга и получения белок-лигандных комплексов. Оценку связывания комплексов проводили методом MMPBSA, который рассчитывал энергию связывания лиганда с белком. Получая и оценивая значения энергии, делали вывод о способности белка связывать то или иное соединение.

Выводы. Обнаружен ряд белков, которые потенциально могут выступать в качестве мишеней для терапии болезни Паркинсона с применением малых молекул на основе диолов.

Список литературы

1. Kotliarova A., et al. A Newly Identified Monoterpenoid-Based Small Molecule Able to Support the Survival of Primary Cultured Dopamine Neurons and Alleviate MPTP-Induced Toxicity In Vivo // *Molecules*. 2022. Vol. 27, No. 23. P. 8286.

2. Aleksandrova Y., et al. Monoterpenoid Epoxidol Ameliorates the Pathological Phenotypes of the Rotenone-Induced Parkinson's Disease Model by Alleviating Mitochondrial Dysfunction // International Journal of Molecular Sciences. 2023. Vol. 24, No. 6. P. 5842.

3. Corso G., et al. Diffdock: Diffusion steps, twists, and turns for molecular docking. arXiv. 2022.2210.01776.

Приложения искусственного интеллекта в задачах анализа данных молекулярной онкологии и медицинской генетики

Вяткин Ю. В.

г. Москва, Институт искусственного интеллекта МГУ,
Y.Vyatkin@iai.msu.ru

Введение. С момента своего появления в 1950-х годах искусственный интеллект (ИИ) претерпел значительное развитие, отмеченное такими вехами, как победы Deep Blue и AlphaGo в шахматах и го соответственно. Последние достижения, особенно в области глубокого обучения и таких технологий, как GPT-3 еще больше усилили его влияние в различных областях, включая медицинские исследования и диагностику. В этой области ИИ находит широкое применение: от интерпретации вариантов при моногенных заболеваниях до поиска лекарств и понимания закономерностей экспрессии генов.

Материалы и методы. Разработаны такие инструменты, как ONQUETA, направленные на оптимизацию генетического скрининга рака, повышая точность и эффективность диагностики. Процесс создания лекарственных препаратов существенно изменился благодаря ИИ. Одним из наиболее заметных достижений ИИ последних лет является успех AlphaFold в предсказании структуры белков. Это программное обеспечение обеспечивает новый уровень понимания функций и взаимодействий белков, что важно для создания лекарственных препаратов.

Результаты. Влияние ИИ распространяется на создание новых белков со специфическими функциями, что является одним из рубежей синтетической биологии. Например, создание таких белков, как антагонисты рецептора инсулина с улучшенными свойствами демонстрирует потенциал ИИ в создании новых терапевтических подходов. Методы, включающие диффузионные генеративные модели, используются для точного позиционирования лигандов, предлагая новые стратегии в разработке лекарств. Более того, влияние ИИ на понимание экспрессии генов единичных клеток сопоставимо с его революцией в обработке естественного языка. Так же, как ИИ может расшифровывать сложные языковые шаблоны, он может анализировать данные об экспрессии генов, позволяя детально аннотировать типы клеток и интегрировать различные типы биологических данных.

Выводы. Путь ИИ от теоретической концепции до практического инструмента в молекулярной онкологии и медицинской генетике подчеркивает его преобразующий потенциал. ИИ является основой современных научных медицинских исследований – от углубления понимания структуры белков до разработки новых терапевтических подходов и расшифровки сложных моделей экспрессии генов.

Список литературы

1. Askar H., Elgeldawi E., Aboul Ella H., et al. Deep learning in drug discovery: an integrative review and future challenges // Artif Intell Rev. 2023. No. 56. P. 5975–6037.

2. Watson J. L., Juergens D., Bennett N. R., et al. De novo design of protein structure and function with Rfdiffusion // Nature. No. 620. P. 1089–1100.

3. Haotian C., et al. scGPT: Towards building a foundation model for single-cell multi-omics using generative AI // bioRxiv. 2023.

Проблема интегральности живых систем и современная механобиология

Ермаков А. С.

г. Москва, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,

г. Москва, Московский физико-технический институт,

г. Москва, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН

ermakov99@mail.ru

Введение. Механобиология изучает роль механических свойств клеток и тканей в биологическом морфогенезе, клеточных дифференцировках, физиологических процессах в норме и при патологиях.

Материалы и методы. Проведен анализ основных достижений исследовательских групп, рассматривающих механические силы и напряжения как факторы интеграции развития живых организмов и их функционирования.

Результаты. Механические силы и напряжения, действуя на эмбриональные ткани, играют критически важную роль в процессах индивидуального развития и могут рассматриваться как факторы дальнего действия, интегрирующие биологические системы в единое целое. В 1970-х гг. независимо друг от друга в США и СССР возникли научные школы, ориентированные на изучение роли механических сил и напряжений в регуляции биологического морфогенеза и клеточных дифференцировок. Американские биологи А. Харрис и его коллеги показали возможность самоорганизации клеточных коллективов на эластичных субстратах и формирование упорядоченных паттернов, а Д. Ингбер привнес идеи о самонапряженных конструкциях из инженерии в биологию и развивал теоретические представления о живых системах как самонапряженных структурах (концепция биотенсегрити). В СССР проф. МГУ Л. Белусов и его ученики изучают роль механических факторов в эмбриональном развитии позвоночных и приходят к выводу о существовании системы обратных связей между механическими напряжениями и морфогенетическими движениями клеток в ходе биологического морфогенеза. Конец XX и начало XXI вв. знаменуются бурным развитием интереса к механическим аспектам функционирования клеток и тканей, активным изучением процессов клеточной механотрансдукции и открытием механозависимой экспрессии генов.

Выводы. Работы по изучению роли механических сил и напряжений в регуляции процессов биологического морфогенеза и клеточных дифференцировок успешно продолжаются. Открытие механозависимой экспрессии генов, изучение клеточной и ядерной механотрансдукции позволяют понять молекулярно-биологические механизмы взаимного влияния механических сил и биологических процессов в развитии и функционировании клеток и тканей.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 22-65-00022, и государственного задания АААА-А20-120121790092-6 ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН.

Список литературы

1. Belousov L. V., Luchinskaya N. N., Ermakov A. S., Glagoleva N. S. Gastrulation in amphibian embryos, regarded as a succession of biomechanical feedback events // *Int J Dev Biol.* 2006. Vol. 50, No. 2-3. P. 113–22.
2. Ermakov A. S. The Theory of Tensegrity and Spatial Organization of Living Matter // *Russian Journal of Developmental Biology.* 2018. Vol. 49, No. 2. P. 87–100.
3. Ermakov A. S. Prerequisites for the Formation of Modern Mechanobiology // *Paleontological Journal.* 2023. Vol. 57, No. 11. P. 22–32.

Применение ИИ и результатов молекулярно-генетического тестирования для диагностики дефектов костей и суставов

Минин А. Р.
г. Москва, Институт искусственного интеллекта МГУ,
a.minin@iai.msu.ru

Введение. В настоящее время системы искусственного интеллекта становятся ключевым элементом в повышении эффективности клинической работы и качества медицинской помощи. В научной группе «Искусственный интеллект в биоинформатике и медицине» Института искусственного интеллекта МГУ на основе нейросетевых моделей разрабатывается программный комплекс для автоматического обнаружения признаков дегенерации поясничных межпозвонковых дисков и мониторинга состояния эндопротезов тазобедренного сустава. Эти проблемы актуальны, так как связанные с ними патологии являются одними из основных причин нетрудоспособности людей зрелого и пожилого возраста и снижают качество жизни пациентов.

Материалы и методы. В сотрудничестве с двумя крупнейшими клиническими центрами в области ортопедии НИИТО и ЦИТО сформирована выборка из 377 снимков пациентов, из которых 300 использовались для обучения модели, а 77 – для тестирования. Разработка модели оценки степени дегенерации межпозвонковых дисков по снимкам МРТ основана на шкале Pfirrmann. Задача классификации степени дегенерации межпозвонковых дисков сводится к сегментации изображения, для ее решения в качестве базовой модели была выбрана нейросетевая модель с архитектурой U-Net. Задача мониторинга состояния эндопротезов тазобедренного сустава включала несколько подзадач, в том числе обнаружение на снимках тазовой и бедренной кости, а также чашки, головки и шейки эндопротеза. Клиникой НИИТО на данном этапе работ были отобраны рентгенограммы 62 пациентов: 50 – для обучения, 12 – для тестирования. Для сегментации изображений при этом также используется модель U-Net.

Результаты. Анализ предсказаний степени дегенерации межпозвонковых дисков показал существенное влияние значительного дисбаланса классов, а также различий в интерпретации смежных классов разными специалистами, размечавшими выборку. Модель, разрабатываемая для оценки степени дегенерации межпозвонковых дисков, в настоящее время еще не обеспечивает качества, необходимого для практического применения. Поэтому необходимо уточнить критерии классификации и увеличить выборку изображений. В рамках задачи по мониторингу состояния эндопротезов тазобедренного сустава на данный момент решены задачи сегментации тазовой и бедренной кости. Метрика IOU (Intersection over Union) на тестовой выборке составляет 0,961 для тазовой и 0,968 – для бедренной кости. Решена задача оценки смещения ножки эндопротеза. Для дальнейших работ также необходимо увеличить количество пациентов в выборке и провести дополнительную разметку.

Выводы. Применение искусственного интеллекта в медицинской диагностике значительно улучшает процесс выявления и лечения заболеваний, снижая риск ошибок. Разработанные модели позволяют увеличить эффективность лечения и снизить необходимость повторных операций.

Список литературы

1. Pfirrmann C. W., Metzdorf A., Zanetti M., et al. Magnetic resonance classification of lumbar intervertebral disc degeneration // *Spine*. 2001. Vol. 26, No. 17. P. 1873–1878.
2. Ronneberger O., Fischer P., Brox T. U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation // *CoPR*. 2015. arXiv:1505.04597.

Применение искусственного интеллекта для предсказания клинического и молекулярного эффекта вариантов генома

Раменский В. Е.

*г. Москва, Институт искусственного интеллекта МГУ им. М. В. Ломоносова,
г. Москва, НМИЦ Терапии и профилактической медицины Минздрава РФ
г. Москва, Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ им. М. В. Ломоносова
v.ramensky@iai.msu.ru*

Введение. По мере распространения методов высокопроизводительного секвенирования за последнее десятилетие процедура секвенирования больших популяционных или клинических когорт стала рутинной. Это позволило описать варианты нуклеотидной последовательности у десятков и сотен тысяч индивидуумов, представляющих различные популяции и нозологии. Тем не менее, из всех теоретически возможных 450 млн несинонимичных вариантов в протеоме человека на данный момент фактически наблюдали около 16 млн, из них клиническая значимость (безвредный или болезнетворный) описана примерно для 0,1–0,2 %. Индивидуальный экзом содержит примерно 10 000 несинонимичных вариантов, не менее 100 из которых очень редки в популяции или уникальны и могут обладать клиническим или функциональным эффектом. Очевидно, что классификация основной массы вариантов неизвестной значимости с помощью вычислительных методов остается одной из ключевых задач генетики человека.

Результаты. В течение последних 20 лет было разработано большое количество методов анализа вариантов неизвестной значимости, которые применяются в генетике моногенных и комплексных заболеваний, эволюционной биологии, а также при разработке белков с новыми свойствами. Они могут быть условно разделены на несколько типов на основе подходов к обучению и оценке эффективности. В последние годы мы наблюдаем появление предсказательных методов, построенных на принципах глубокого обучения. Такие методы обучаются на всем огромном массиве последовательностей или структур белков различных видов, свободны от ряда ограничений «традиционных» подходов и тем самым представляются наиболее перспективными для решения перечисленных задач.

Список литературы

1. Karczewski K. J., Francioli L. C., Tiao G., et al. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans // *Nature*. 2020. No. 581. P. 434–443.
2. Landrum M. J., Lee J. M., Benson M., et al. ClinVar: public archive of interpretations of clinically relevant variants // *Nucleic Acids Res*. 2016. No. 44. P. D862–868.
3. Lek M., Karczewski K. J., Minikel E. V., et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans // *Nature*. 2016. No. 536. P. 285–291.
4. Katsonis P., Wilhelm K., Williams A., Lichtarge O. Genome interpretation using in silico predictors of variant impact // *Hum Genet*. 2022. No. 141. P. 1549–1577.
5. Tang H., Thomas P. D. Tools for Predicting the Functional Impact of Nonsynonymous Genetic Variation // *Genetics*. 2016. No. 203. P. 635–647.
6. Cheng J., Novati G., Pan J., et al. Accurate proteome-wide missense variant effect prediction with AlphaMissense // *Science*. 2023. No. 381. P. adg7492.
7. Jaganathan K., Kyriazopoulou Panagiotopoulou S., McRae J. F., et al. Predicting Splicing from Primary Sequence with Deep Learning // *Cell*. 2019. No. 176. P. 535548.e24.
8. Brandes N., Goldman G., Wang C. H., et al. Genome-wide prediction of disease variant effects with a deep protein language model // *Nat Genet*. 2023. No. 55. P. 1512–1522.
9. Gao H., Hamp T., Ede J., et al. The landscape of tolerated genetic variation in humans and primates // *Science*. 2023. No. 380. P. eabn8153.

Применение искусственного интеллекта для предсказания уровня глюкозы в крови у людей с аутоиммунным заболеванием сахарный диабет 1 типа

Сазиков Р. С.¹, Тунян Э. Г.²

¹г. Сургут, Сургутский филиал Федерального научного центра НИИ системных исследований РАН,
sazikov@edro.su

²г. Сургут, Сургутский государственный университет,
tunyan@edro.su

Введение. Сахарный диабет является одной из важных мировых проблем здравоохранения. Согласно оценке Всемирной Организации Здравоохранения, во всем мире сахарным диабетом болеет свыше 422 млн человек, что составляет ~5 % от всего населения. Данное заболевание не имеет определенных возрастных групп, оно может встречаться как у новорожденных, так и у людей преклонного возраста. Для оказания помощи людям, которые впервые столкнулись с данным заболеванием, было предложено разработать систему, которая позволила бы на базе мобильного приложения «ЕДРО Диабет» производить предсказания уровня глюкозы в крови на основе ранее употребляемых продуктов питания и показателей сахара.

Материалы и методы. Создано приложение «ЕДРО Диабет», призванное облегчить повседневную жизнь пациентов с диабетом, позволяя им более точно и безопасно управлять своим здоровьем. Приложение является кросс-платформенным решением для мобильных устройств на основе систем Android и IOS. Функциональное назначение – автоматический расчет величины инсулина для инъекций на потребляемую пищу исходя из характеристик продуктов питания. Приложение включает обширную базу продуктов питания с характеристиками более чем 500 тысяч продуктов от российских ритейлеров. По каждому продукту есть информация о микронутриентах и макроэлементах, которые позволяют рассчитывать желаемые показатели по инсулину и прогнозировать уровень глюкозы в крови. База данных является динамической, т. е. в случае, если товар не найден в базе, делаются параллельные запросы к сайтам ритейлеров, полученные данные очищаются от дубликатов и выдаются пользователю.

Система прогнозирования глюкозы в крови у людей с аутоиммунным заболеванием сахарный диабет 1 типа основана на модели прогнозирования университета Досиша (Япония). Разработана модельная формула для прогнозирования показателей постпрандиальной гипергликемии, таких как инкрементная площадь под кривой (iAUC) и изменение максимальной концентрации глюкозы в крови (ΔC_{\max}). Эта формула основана на значениях iAUC (в мг/дл·мин) или ΔC_{\max} , полученных после употребления стандартной пищи, такой как рис, удон и хлеб, и учитывает питательные компоненты тестируемой пищи.

Результаты. Прогнозируемый iAUC был рассчитан путем замены количества питательных компонентов и повышенного iAUC 159 тестовых продуктов, испытываемых в 18 тестах в формуле модели прогнозирования. Между измеренным значением и прогнозируемым значением обнаружена положительная корреляция; коэффициент корреляции $r = 0,53$; значение MARD составило $32,4 \pm 2,0$ %. Анализ подкласса, в котором испытываемые ($n = 159$) были разделены на три группы в зависимости от легкости, с которой повышался уровень глюкозы в крови, показал значения MARD $25,5 \pm 2,3$ % в верхней группе, 25 % ($n = 42$), $31,7 \pm 2,8$ % – в средней группе ($n = 75$) и $40,4 \pm 5,1$ % – в нижней группе 25 % ($n = 42$). MARD в нижней 25 %-й группе был достоверно выше, чем в верхней 25 %-й группе ($p < 0,05$).

Вывод. Получена хорошая корреляция между предсказанными и измеренными значениями. Отмечено, что точность прогностической формулы чаще всего была выше в случаях испытываемых, у которых вероятность повышения уровня глюкозы в крови была более высокой.

Список литературы

1. Nagai R., Mori T., Yamamoto Y. Significant of advanced glycation end products in aging-related disease // *Anti-Aging Med.* 2010. No. 7. P. 112–119.
2. Ichihashi M., Yagi M., Nomoto K. Glycation stress and photo-aging in skin // *Anti-Aging Med.* 2011. No. 8. P. 23–29.
3. Matsushima M., Yagi M., Hamada U. Prevention of postprandial hyperglycemia by the combination of a staple food and a side dish // *Glycative Stress Res.* 2014. No. 1. P. 53–59.
4. Kusunoki Y., Katsuno T., Nakae R. Comparison of numerical accuracy of personal and professional continuous glucose monitors // *J Japan Diab Soc.* 2015. No. 58. P. 715–720.

Раздел III МИКРОБИОМ ЧЕЛОВЕКА

Трансплантация фекальной микробиоты: от теории к практике

Беспярых Ю. А.^{1, 2, 3}, Калачнюк Т. Н.¹, Жгун Е. С.¹, Господарик А. В.¹
¹г. Москва, Федеральный научно-клинический центр
физико-химической медицины им. акад. Ю. М. Лопухина ФМБА России,
JuliaBes@rcpct.org
²г. Москва, Национальный научно-исследовательский институт
общественного здоровья им. Н. А. Семашко
³г. Москва, Российский химико-технологический университет
им. Д. И. Менделеева

Введение. Общемировой тенденцией является использование новой многообещающей медицинской технологии – трансплантации фекальной микробиоты (ТФМ), основанной на введении здорового фекального материала донора реципиенту с целью восстановления нарушенной микробиоты кишечника. ТФМ стала высокоэффективным методом лечения (бактериотерапией) при рецидивирующей инфекции *Clostridioides difficile*. В 2022 г. FDA впервые зарегистрирован препарат фекальной микробиоты Rebyota для ректального введения, а в мае 2023 г. одобрен пероральный препарат Vowst.

Цель исследования – создание алгоритма подбора донора фекальной микробиоты и проведения ТФМ для профилактики и терапии различных желудочно-кишечных осложнений (реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) после трансплантации костного мозга, болезни Крона (БК), синдрома раздраженного кишечника (СРК)).

Материалы и методы. Для создания банка доноров фекальной микробиоты в исследовании включено 57 потенциально здоровых добровольца. Пробоподготовка биоматериала для трансплантации проводилась по собственной разработанной методике. В качестве реципиентов ТФМ в исследование включено 14 пациентов (от 1,6 до 17 лет) с РТПХ после алло-ТГСК, 39 пациентов с клостридиальной инфекцией, 42 – с СРК, 29 – с БК. Всем пациентам проведена ТФМ: введение жидкой фракции (n = 148), прием пероральных капсул лиофилизированного материала (n = 6). На всех этапах, в том числе до ТФМ в кале пациентов проводили оценку патогенной флоры, включая ряд вирусов. Проведен анализ кала на определение бактериального состава, содержание желчных (ЖК) и жирных (КЦЖК) кислот. Дополнительно проведено метагеномное секвенирование образцов кала доноров и реципиента до и после процедуры ТФМ.

Результаты. Согласно данным анкетирования и результатам клинических исследований (общий и биохимический анализ крови) 23 из 57 добровольцев включены для дальнейшего исследования. Анализ бактериологического состава ФМ показал, что соответствуют нормам только 4 из 23 добровольцев.

Клинический эффект достигнут у 123 из 124 пациентов. Нежелательные явления сводились к тошноте в день процедуры, метеоризму в первые 24–72 часа. После двух процедур нивелирован кишечный синдром, получены отрицательные результаты анализов на РНК астровируса, клостридиальные токсины и энтероинвазивную кишечную палочку. Увеличилось содержание холевой и дезоксихолевой кислот в кале, а также их конъюгатов с глицином и таурином; повысилось содержание уксусной кислоты с одновременным снижением уровня пропионовой кислоты, что указывает на восстановление функционального потенциала кишечной микробиоты.

Результаты секвенирования подтвердили изменение микробного пейзажа реципиента после проведенной процедуры ТФМ. Следует также отметить, что у пациентов с нехарактерным кишечным составом микробиоты, у которых детектированы в кале *Staphylococcus epidermidis*, *St. oralis*, *Veillonella parvula*, после процедуры ТФМ данные микроорганизмы не выявлены.

Выводы. Анализ потенциальных доноров фекальной микробиоты выявил очень низкий процент соответствия нормам по различным критериям, что может свидетельствовать о проблеме с кишечником у населения в целом. Трансплантация фекальной микробиоты способствует восстановлению нормальной микрофлоры кишечника, устранению токсинов, что подтверждается, в том числе показателями метаболитов.

Список литературы

1. Щербаков П. Л., Белова Н. Д., Генерозов Э. В. и др. Применение фекальной трансплантации в лечении заболеваний пищеварительного тракта: первый клинический опыт // Доктор.Ру. 2019. № 3. С. 40–46.
2. Wilson B. C., Vatanen T., Cutfield W. S., O'Sullivan J. M. The Super-Donor Phenomenon in Fecal Microbiota Transplantation // Front Cell Infect Microbiol. 2019. No. 9. P. 2.
3. Chen J., Zaman A., Ramakrishna B., Olesen S. W. Stool Banking for Fecal Microbiota Transplantation: Methods and Operations at a Large Stool Bank // Front Cell Infect Microbiol. 2021. No. P. 11622949.
4. Сорокина Е. А., Жгун Е. С., Кислун Ю. В. и др. Оптимизация технологии получения препарата бактерий человека для биологической коррекции микрофлоры кишечника // Bio-medical Chemistry: Research and Methods. 2021. Vol. 4, No. 2. P. e00151.

Характеристика оральной микробиоты у пациентов с пародонтитом в постковидный период

*Гимранова И. А.¹, Акмалова Г. М.¹, Швец Д. Ю.¹,
Газизуллина Г. Р.¹, Азнагулов А. А.²*

*¹г. Уфа, Башкирский государственный медицинский
университет Минздрава России,
mia8408@mail.ru*

²г. Уфа, Стоматологическая поликлиника № 2

Введение. В поддержании необходимого баланса иммунного гомеостаза организма человека существенная роль отводится состоянию его микробиома, дисбаланс которого имеет большое значение в генезе многих системных заболеваний, в том числе вирусного происхождения. Как и другие микробные сообщества в организме, микробиота полости рта представляет защитный барьер от различных экзогенных патогенов. В литературе описаны результаты анализа состояния различных микробных биотопов при COVID-19, однако данные по оценке микробного пейзажа полости рта у пациентов с пародонтитом в постковидный период практически единичны. Исходя из этого, целью нашей работы явилось изучение видового и количественного состава оральной микробиоты у пациентов с пародонтитом легкой и средней степени тяжести в постковидном периоде.

Материалы и методы. Исследование проводилось в период 2022–2023 гг. на базе стоматологической поликлиники № 2 (г. Уфа). Были обследованы 73 пациента с пародонтитом легкой степени тяжести в возрасте 40–65 лет, из них 52 пациента (основная группа), имеющие в анамнезе COVID-19, и 21 пациент (контрольная группа), не болевшие COVID-19. Для определения микробиоты производили бактериологическое исследование содержимого пародонтальных карманов у обследуемых пациентов путем посева на питательные среды для выделения факультативных анаэробов и микроаэрофилов. Идентификацию до вида проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии Vitek MS (BioMerieux, Франция).

Результаты. Обнаружено, что количественный состав микробиоты пародонтальных карманов пациентов контрольной и основной группы достоверно отличался. Одной из доминирующих по количественным показателям микробной обсемененности и частоте обнаружения у всех пациентов была ассоциация *Streptococcus spp.* со *Staphylococcus aureus* на фоне уменьшения численности *Lactobacillus spp.* Средняя концентрация *S. mutans* ($7,18 \pm 0,94$ lg КОЕ/мл) в основной группе была достоверно выше, чем в контрольной ($4,16 \pm 0,76$ lg КОЕ/мл; $p < 0,001$). *S. mitis* встречался в обеих группах, но в основной группе в 1,5 раза чаще (48 % случаев), чем в контрольной (32 %). У 53 % пациентов основной группы *S. aureus* выделен в среднем в количестве $4,07 \pm 2,75$ lg КОЕ/мл, что достоверно больше, чем у пациентов контрольной группы ($1,09 \pm 1,38$ lg КОЕ/мл; $p < 0,05$), выделенный в 46 % случаев. У пациентов, перенесших COVID-19, наблюдали наиболее высокий рост численности *S. mutans*, чем в контрольной группе ($4,54 \pm 1,73$ и $3,27 \pm 1,15$ lg КОЕ/мл соответственно), при этом частота встречаемости *S. mutans* была ниже на 7 % в основной группе (93 и 100 % соответственно). Следует отметить, что в основной группе также были идентифицированы *E.coli* (4,5 %), *K. pneumonia* (3 %), которые не встречались у пациентов контрольной группы, вызывающие утяжеление воспалительного процесса.

Выводы. Полученные данные указывают на индивидуальные особенности оральной микробиоты у больных пародонтитом, имеющих в анамнезе COVID-19, свидетельствующие о негативных тенденциях с усугублением основного заболевания, что обосновывает необходимость проведения своевременной микробиологической диагностики для выбора правильного алгоритма лечения.

Список литературы

1. Hussain I., Cher G. L., Abid M. A., Abid M. B. Role of gut microbiome in COVID-19: An insight into pathogenesis and therapeutic potential // Front Immunol. 2021. No. 12. P. 765965.
2. Soffritti I., d'Accolti M., Fabbri C., et al. Oral microbiome dysbiosis is associated with symptoms severity and local immune/inflammatory response in COVID-19 patients: a cross-sectional study // Front Microbiol. 2021. No. 12. P. 687513.
3. Гилева О. С., Либик Т. В., Гибадуллина Н. В., и др. Ключевые стоматологические проблемы периода пандемии COVID-19: мониторинг состояния стоматологического здоровья у пациентов с хроническими заболеваниями слизистой оболочки полости рта // Стоматология. 2021. Т. 100, № 6-2. С. 8–15.
4. Гилева О. С., Фельдблюм И. В., Либик Т. В., и др. Ключевые стоматологические проблемы периода пандемии COVID-19: междисциплинарная платформа // Стоматология детского возраста и профилактика. 2021. Т. 21, № 1. С. 61–65.
5. Рабинович И. М., Гилева О. С., Акмалова Г. М., и др. Характеристика оральной микробиоты у пациентов с заболеваниями слизистой оболочки рта, перенесших новую коронавирусную инфекцию (COVID-19) // Клиническая стоматология. 2023. Т. 26, № 2. С. 38–43.

Микробиота кишечника и ее функциональные характеристики при младенческих коликах

Кожакметов С. С.
Казахстан, г. Астана, ЧУ «National Laboratory Astana» Назарбаев Университет,
skozhakhmetov@nu.edu.kz

Введение. Детские колики являются распространенным заболеванием и не имеют общепринятой этиологии. Состояние характеризуется безутешным плачем и криками без видимой причины. У ребенка напряжен живот, подтянуты ноги, красное лицо. В качестве предполагаемых причин рассматриваются желудочно-кишечные расстройства, психосоциальные, гормо-

нальные, пищевые и пр. По результатам различных исследований, распространенность этого состояния колеблется от 8 до 40 %. Одним из основных предположений при грудном вскармливании являются желудочно-кишечные нарушения в ответ на вещества в рационе матери.

Материалы и методы. Образцы мекония и фекалий собирали незамедлительно после дефекации из подгузника в пробирку для сбора ДНК/РНК (Zymo Research, США). Геномную ДНК из образцов фекалий экстрагировали с использованием набора ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit. Секвенирование проводили на платформе Illumina NovaSeq-6000. При анализе полученных необработанных данных секвенирования использовали комплекс интегрированных методов таксономического, деформационного, функционального и филогенетического профилирования метагеномов bioBakery 3. Для таксономического профилирования использовался MetaPhlAn 4, а для функционального профилирования – HUMAnN 3, нативные аннотации проводили в UniRef90.

Результаты исследований. Проведено проспективное обсервационное исследование, в котором приняли участие 62 новорожденных и их матери. Исследование включало две группы, каждая из которых состояла из 15 младенцев с коликами и 21 ребенка из контрольной группы. И те, и другие младенцы рождались вагинально и находились на исключительно грудном вскармливании. Образцы фекалий у детей собирали в течение периода от 1 дня до 12 месяцев. Проведено полное метагеномное секвенирование образцов фекалий детей и их матерей. Установлено, что траектория развития микробиома кишечника детей с коликами отличалась от группы детей без колик. Ключевые различия в микробных таксонах между двумя группами включали более низкие уровни полезных бактерий, таких как *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* и *Faecalibacterium prausnitzii*. Известно, что эти бактерии играют важную роль в поддержании здоровья кишечника, включая производство короткоцепочечных жирных кислот и модуляцию иммунной системы. Обнаружено, что у младенцев с коликами присутствует более высокий уровень условно-патогенных бактерий, таких как *Clostridium*, *Escherichia coli* и *Enterobacteriaceae*. Эти бактерии связаны с воспалением кишечника, диареей и другими проблемами пищеварения. В группе детей с коликами выявлено более быстрое увеличение филогенетического разнообразия бактерий, что может свидетельствовать об ускоренном созревании микробиома у этих детей. Такая динамика продолжается до прекращения колик. Снимок микробиома в возрасте 12 месяцев показывает относительное выравнивание биоразнообразия, что может косвенно указывать на влияние ранних кишечных микробов-колонизаторов на возникновение детских колик.

Профилирование метаболических путей показало, что группа детей без колик была обогащена путями биосинтеза аминокислот, в то время как микробиом фекалий группы детей с коликами был обогащен метаболическими путями гликолиза, которые коррелировали с таксоном *Bacteroides*. Это исследование показывает, что детские колики имеют определенную связь со структурой микробиома младенцев.

Выводы. Микробиом кишечника младенцев сложен и динамичен, при этом многие факторы могут способствовать появлению симптомов колик. Мекониевый микробиом и его формирование могут влиять на будущую траекторию развития микробиоты посредством биосинтеза полезных органических молекул, деградации углеводов, выделения газа. Взаимосвязь между микробиомом кишечника и коликами до сих пор не до конца понятна, и необходимы дальнейшие исследования для выявления конкретных микроорганизмов или микробных путей, которые связаны с коликами, а также для установления взаимосвязей микроорганизмов с другими факторами окружающей среды и генетическими факторами, которые могут способствовать появлению симптомов колик.

Список литературы

1. Iacovou M., Craig S. S., Yelland G. W., et al. Randomised clinical trial: reducing the intake of dietary FODMAPs of breastfeeding mothers is associated with a greater improvement of the

symptoms of infantile colic than for a typical diet // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2018. Vol. 10, No. 48. P. 1061–1073.

2. Johnson J. M., Adams E. D. The Gastrointestinal Microbiome in Infant Colic: A Scoping Review // *MCN: The American Journal of Maternal/Child Nursing*. 2022. Vol. 4, No. 47.

3. Mai T., Fatheree N. Y., Gleason W., et al. Infantile Colic: New Insights into an Old Problem // *Gastroenterology clinics of North America*. 2018. Vol. 4, No. 47. P. 829–844.

Новый взгляд на последствия коронавирусной инфекции: микробиомные и цитокиновые паттерны постковидного синдрома

Кушугулова А. Р.

Казахстан, г. Астана, ЧУ «National Laboratory Astana» Назарбаев Университет,
akushugulova@nu.edu.kz

Введение. После острой фазы COVID-19 у пациентов наблюдается продолжающееся воспаление и повреждение тканей, что приводит к долгосрочным осложнениям. Микробиом кишечника является значимым фактором в патофизиологических механизмах постковидных осложнений. Большое количество исследований в области COVID-19 и постковидного синдрома представляют собой вклад в изучение составляющих звеньев патогенетического механизма SARS-CoV-2. Цель исследования – изучение взаимосвязи между изменениями в кишечном микробиоме и цитокиновым профилем у пациентов с COVID-19, понимание иммунного ответа во время острого процесса, выявление цитокинов, связанных с тяжестью заболевания и послеинфекционными осложнениями после COVID-19, а также изучение потенциальных биомаркеров для прогноза и терапевтических целей.

Материалы и методы. С использованием секвенирования ампликонов 16S рРНК проанализирован состав микробиома кишечника у 294 пациентов с острым течением COVID-19 и далее в течение 12 месяцев постковидного периода. Также были измерены уровни цитокинов и хемокинов в сыворотке с использованием мультиплексного анализа.

Результаты. Тяжелое поражение SARS-CoV-2, осложненное пневмонией, характеризуется сдвигом в сторону провоспалительного фенотипа и преобладанием *Bacteroides*, *Feacalibacterium* и *Prevotella* в микробиоме кишечника. Ранее было показано значительное снижение численности *Eubacterium hallii* в острый период COVID-19. *E. hallii* может быть маркером как инсулинорезистентности, так и когнитивной дисфункции, при этом изменения в численности *E. hallii* могут быть связаны с тяжестью COVID-19. У пациентов с COVID-19 наблюдалось значительное снижение количества *E. hallii* по сравнению со здоровыми, что ассоциировано с маркерами воспаления и тяжестью COVID-19. В динамическом наблюдении установлено, что *E. hallii* отрицательно коррелирует с MIP-1b, MCP-1, IFN α 2, эотаксином, TNF α , IL-7, IL-12(p40), G-CSF, IP-10, Ил-10, FGF-2. Более того, выявлено, что постковидный синдром характеризуется перекрестной корреляцией различных цитокинов и хемокинов MDC, IL-1b, Fractalkine, TNF α , FGF-2, EGF, IL-1RA, IFN- α 2, IL-10, sCD40L, IL-8, Eotaxin, IL-12p40 и MIP-1b. К шестому месяцу после выздоровления от коронавирусной инфекции, независимо от тяжести заболевания, могут развиваться осложнения, такие как артериальная гипертензия, сахарный диабет 2-го типа, непереносимость глюкозы, тиреотоксикоз, атеросклероз и т. д. Важно отметить, что эти осложнения также могут быть предсказаны во время острой фазы коронавирусной инфекции. Понимание паттернов цитокинов может помочь в прогнозировании прогрессирования заболевания, выявлении пациентов с повышенным риском и разработке целенаправленных вмешательств для улучшения результатов при COVID-19.

Выводы. Постковидный синдром характеризуется взаимной корреляцией нескольких цитокинов и изменением микробиома кишечника в сторону провоспалительной микрофлоры,

а также связями между микробиомом кишечника, сывороточными цитокинами и возникновением постковидных осложнений.

Список литературы

1. Yeoh Y. K., Tao Z., Grace C. Y. L., et al. Gut Microbiota Composition Reflects Disease Severity and Dysfunctional Immune Responses in Patients with COVID-19. 2021 // Gut. Vol. 70, No. 4. P. 698–706.
2. Hirayama M., Hiroshi N., Tomonari H., et al. Intestinal Collinsella May Mitigate Infection and Exacerbation of COVID-19 by Producing Ursodeoxycholate // PLoS ONE. 2021. No.16. P. e0260451.

Влияние кишечной микробиоты на распространенность ожирения и связанных с ним заболеваний у детей

Швец Д. Ю., Шангареева З. А., Газизуллина Г. Р., Гимранова И. А.
г. Уфа, Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России
shvetsdasha99@yandex.ru

Введение. Ожирение – многофакторное заболевание, которое развивается в результате сложного взаимодействия генетических факторов, образа жизни и метаболической активности кишечной микробиоты. Имеются сведения, что увеличение численности видов *Clostridium leptum* и *Eubacterium hallii*, а также снижение численности *Faecalibacterium prausnitzii* и *Clostridioides difficile* связано с ожирением у младенцев, детей дошкольного и школьного возраста. Снижение численности представителей нормальной микробиоты кишечника, бактерий родов *Bacteroides/Prevotella*, обусловленное их избыточным размножением, также связывают с ожирением. Нарушение количественного соотношения *Bacteroidetes/Firmicutes* рассматривается как специфических маркер ожирения. При этом зависимость между составом кишечной микробиоты и ожирением еще полностью не изучена. Исходя из этого, целью явилось изучение видового состава кишечной микробиоты у детей с ожирением.

Материалы и методы. В качестве биоматериала взят утренний кал от 34 детей в возрасте 9–16 лет, из них 23 ребенка с ожирением без сопутствующей патологии и 11 здоровых детей без признаков ожирения (в качестве контрольной группы), находившихся под наблюдением эндокринолога в детской поликлинике № 4 (г. Уфа). От родителей всех обследованных получено добровольное информированное согласие на обследование. Исследование кала проводили бактериологическим методом с использованием специфических сред. Идентификацию до вида проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (Autof MS 2600, Китай).

Результаты. Исследования кала у здоровых детей не выявили признаков дисбиоза. Нормобиота была представлена на 95 % основными флотипами *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* и *Actinobacteria*. В отличие от контрольной группы в группе детей с ожирением по результатам было обнаружено, что тип *Firmicutes* был наиболее доминирующим и составлял 68,1 % от всех идентифицированных микроорганизмов, а типы *Proteobacteria* и *Actinobacteria* составляли 27,7 и 2,3 % соответственно. На уровне рода были прокультивированы 10 родов бактерий, из которых преобладали *Staphylococcus* spp. – 36,4 %, *Escherichia* spp. – 22,7 %, *Enterococcus* spp. 13,6 %, *Bacillus* spp. 9,1 %. На уровне видов идентифицированы представители нормальной микробиоты кишечника – *Lactobacillus ruminis* (2,3 %) и *Lactobacillus plantarum* (2,3 %), *Escherichia coli* (22,7 %), *Enterococcus faecium* (6,8 %), *Enterococcus faecalis* (6,8 %), *Klebsiella pneumoniae* (4,5 %), *Staphylococcus epidermidis* (9,1 %), *Staphylococcus haemolyticus* (11,4 %), *Staphylococcus hominis* (13,6 %), *Staphylococcus capitis* (2,3 %). Следует отметить, что в данной

группе детей также были идентифицированы виды: *Bacillus cereus*, *Streptococcus gallolyticus*, *Bacillus pumilus*, *Exiguobacterium aurantiacum*, относящиеся к типу *Firmicutes*, повышение которых, по данным литературы, является маркером развития ожирения у детей.

Выводы. Дети с несбалансированным и недифференцированным микробным сообществом подвергаются более высокому риску развития ожирения и связанных с ним сопутствующих заболеваний.

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Башкирского государственного медицинского университета (Приоритет–2030).

Список литературы

1. Borgo F., Verduci E., Riva A., et al. Relative Abundance in Bacterial and Fungal Gut Microbes in Obese Children: A Case Control Study // *Childhood Obesity*. 2017. Vol. 13, No. 1. P. 78–84.
2. Indiani C. M. D. S. P., Rizzardi K. F., Castelo P. M., et al. Childhood Obesity and Firmicutes/Bacteroidetes Ratio in the Gut Microbiota: A Systematic Review // *Childhood Obesity*. 2018. Vol. 14, No. 8. P. 501–509.
3. Драпкина О. М., Корнеева О. Н. Кишечная микробиота и ожирение. Патогенетические взаимосвязи и пути нормализации кишечной микрофлоры // *Терапевтический архив*. 2016. Т. 88, № 9. С. 135–142.
4. Петрова П. Ю., Ага А. Д., Трапезникова Е. С., Буданова Е. В. Состав кишечной микробиоты как фактор риска развития ожирения у детей // *Анализ риска здоровью*. 2021. № 1. С. 159–172.
5. Савчук Д. В., Шин В. Ф., Теплякова Е. Д. и др. Кишечная микробиота и ее взаимосвязь с ожирением у детей // *Вопросы детской диетологии*. 2019. Т. 17, № 5. С. 54–61.

Раздел IV
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АУТОИММУННЫХ
И ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Культивирование опухолевых клеток рака яичника человека *in vivo*

Биктимиров Т. Р., Шидин В. А., Янин В. Л., Карпова Я. А., Тагирова А. С.
г. Ханты-Мансийск, Ханты-Мансийская государственная медицинская академия,
г. Тюмень, Тюменский государственный медицинский университет
Минздрава России,
timur1826@mail.ru

Введение. Актуальной проблемой является изучение механизмов опухолевого роста. К основным модельным системам, позволяющим провести изучение биологии опухолей, относят клеточные культуры, первичные опухолевые линии *in vitro*, трехмерные модели органоидов *ex vivo*, модели *in vivo* и *in silico*.

Материалы и методы. По результатам анализа литературных данных, установлены основные аспекты процедур культивирования клеток рака яичника, определены лабораторные животные, проведено сравнение методов культивирования *in vivo* и различий гетеротопической и ортотопической трансплантации ксенографта.

Результаты исследования. Определены преимущества и недостатки модельных лабораторных животных для проведения экспериментов *in vivo*, таких как фруктовая дрозофила, различные лабораторные мыши, включая их гуманизированные и трансгенные варианты, гладкая шпорцевая/когтистая лягушка, крысы линии Wistar, домашние куры, а также хорион аллантаисной мембраны куриного яйца. Выявлены различия сингенных, генно-инженерных и гуманизированных моделей, ксеногенных моделей, включая отличие моделей ксенографтов с использованием клеточных культур и пациент-ориентированных ксенографтов, определены преимущества метода создания аватара в случае последнего варианта. Проведен анализ гетеротопических и ортотопических трансплантаций опухолевых тканей у лабораторных животных, а также оценка ортотопических интрабурсальных и гетеротопических внутрибрюшинных трансплантаций. Не выявлено преимуществ ортотопической трансплантации, учитывая ее канцерогенность, способность к инвазии, пролиферативную и метастатическую активности перед внутрибрюшинной трансплантацией.

Выводы. В настоящее время не существует универсальной модели исследования опухолевых клеток рака яичника *in vivo*. Описанные модели обладают различными преимуществами и недостатками, начиная от выбора лабораторного животного и заканчивая методикой имплантации ксенографта. Подбор экспериментальной модели зависит от исследователя и поставленных задач, включая анализ конкретного типа опухоли яичника.

Список литературы

1. Жукова Г. В., Вереникина Е. В., Протасова Т. П. и др. Экспериментальные модели в изучении патогенеза и разработке методов лечения рака яичников: систематический обзор // Вопросы онкологии. 2021. Т. 67, № 4. С. 463–473.
2. Муразов Я. Г., Нюганен А. О., Артемьева А. С. Экспериментальное моделирование карциномы яичника // Лабораторные животные для научных исследований. 2020. № 3. С. 34–42.
3. Tudrej P., Kujawa K. A., Cortez A. J., Lisowska K. M. Characteristics of *in Vivo* Model Systems for Ovarian Cancer Studies // Diagnostics. 2019. Vol. 9, No. 3. P. 1–26.

4. Xu C., Li X., Liu P. et al. Patient-derived xenograft mouse models: A high fidelity tool for individualized medicine // *Oncology letters*. 2019. Vol. 17, No. 1. P. 3–10.

5. Бокова У. А., Третьякова М. С., Щеголева А. А., Денисов Е. В. Модельные системы *in vivo* для исследований в онкологии // *Успехи молекулярной онкологии*. 2023. Т. 10, № 2. С. 8–16.

Макрофаги с устойчивым антиопухолевым профилем для терапии рака груди

Вишнякова П. А.^{1,2}, Ганцова Е. А.^{2,3}, Киселева В. В.¹, Арутюнян И. В.^{2,3}, Хан И. И.⁴,
Покровский В. С.⁴, Дашиинимаев Э. Б.^{5,6}, Ельчанинов А. В.^{1,2,3}, Фатхудинов Т. Х.^{1,2,3}

¹г. Москва, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства,
гинекологии и перинатологии им. акад. В. И. Кулакова,
вра2002@mail.ru

²г. Москва, НИИ молекулярной и клеточной медицины
Российского университета дружбы народов,

³г. Москва, НИИ морфологии человека им. акад. А. П. Авцына
Российского научного центра хирургии им. акад. Б. В. Петровского,

⁴г. Москва, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России,

⁵г. Долгопрудный, Московский физико-технический институт

⁶г. Москва, Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н. И. Пирогова

Введение. Макрофаги представляют собой клетки врожденного иммунного ответа, которые могут не только поглощать другие клетки, но и представлять антигены. Макрофаги играют ключевую роль в поддержании тканевого равновесия как в нормальных физиологических условиях, так и при различных патологических процессах. Известно, что опухолевое микроокружение содержит значительное количество опухолеассоциированных макрофагов. В соответствии с современной концепцией бинарной поляризации выделяют проинфламаторные (M1) и противовоспалительные (M2) макрофаги. Целью работы являлось создание инновационного метода клеточной терапии против опухолей, основанной на использовании M1-поляризованных макрофагов, в перспективе лечения рака молочной железы.

Материалы и методы. Для формирования устойчивого провоспалительного фенотипа макрофагов была проведена генетическая модификация клеток на основе CRISPR/Cas-системы с помощью лентивирусной трансдукции. После анализа данных ранее проведенного транскриптома M1-поляризованных макрофагов для нокаута были выбраны гены *BIN1*, *Ido1*, *Asic1*, *Socs3*, *Socs1*, *Irf4*, *Irf5*. С использованием лентивирусов третьего поколения выполнена доставка конструкций в клетки линии THP1 (human leukemia monocytic cell line). Клетки отбирали с использованием зеленого флуоресцентного белка GFP методом лазерного сортирования, проводили оценку экспрессии целевых генов методом ПЦР в реальном времени.

Результаты. Нокаутные клетки продемонстрировали существенное снижение уровня экспрессии гена *Asic1*. Дальнейшее использование полученных клеток в мышинной модели рака молочной железы привело к замедлению роста опухоли в сравнении с контрольной группой. Оценка маркера клеточной пролиферации Ki67 показала значимое снижение Ki67+ клеток в опухолях, лечение которых проводилось нокаутными клетками THP1. При этом уровень экспрессии гена *p53* был снижен в этой группе незначимо. При анализе поверхностных маркеров макрофагов методом проточной цитометрии в группе интереса, обработанной нокаутными клетками, выявлено значимое увеличение панлейкоцитарного маркера CD45, моноцитарного маркера CD11b, макрофагального маркера CD68 и маркера провоспалительных макрофагов CD86. Уровень экспрессии гена *CCR7*, характерного для M1-клеток, незначимо повышался при обработке THP1 M1-модифицированными клетками, при этом незначимо снижался уровень экспрессии гена *TGFbeta* – маркера M2-макрофагов.

Выводы. Полученные данные указывают на успешную генетическую модификацию макрофагов для достижения противовоспалительного фенотипа. Результаты также могут подтвердить потенциальную эффективность клеточной терапии опухолевых заболеваний, основанной на M1-макрофагах.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 22-15-00241.

Список литературы

1. Elchaninov A., Vishnyakova P., Menyailo E., Sukhikh G., Fatkhudinov T. An Eye on Kupffer Cells: Development, Phenotype and the Macrophage Niche // International Journal of Molecular Sciences. 2022. Vol. 23, No. 17. P. 9868.
2. Vishnyakova P., Poltavets A., Karpulevich E., et al. The response of two polar monocyte subsets to inflammation // Biomed Pharmacother. 2021. No. 139. P. 111614.

Ассоциации полиморфных вариантов гена белка теплового шока *DNAJB1* с риском развития сахарного диабета 2 типа

Клёсова Е. Ю.¹, Петрухина И. Ю.², Азарова Ю. Э.¹, Полоников А. В.¹

¹г. Курск, Курский государственный медицинский университет Минздрава России,
ecless@yandex.ru

²г. Москва, Поликлиника № 1 Управления делами Президента Российской Федерации,
irinakles2012@mail.ru

Введение. Сахарный диабет 2-го типа (СД2) является самым распространенным эндокринологическим заболеванием, при этом Россия находится на втором месте среди всех европейских стран по количеству больных диабетом, 90 % из которых составляют больные СД2. Одним из ключевых нарушений, выявляемых при СД2, является стресс эндоплазматического ретикулума и активация клеточного ответа на неупакованные белки, которые вызваны накоплением белков с неправильной укладкой и изменением белкового гомеостаза клетки. Цель – изучение ассоциаций полиморфных вариантов rs3810252, rs8496 и rs755892 гена *DNAJB1* с риском развития СД2.

Материалы и методы. В период с декабря 2016 г. по октябрь 2019 г. в исследование включено 1 579 больных СД2, получавших лечение на базе эндокринологического отделения Курской городской клинической больницы скорой медицинской помощи, и 1 650 относительно здоровых добровольцев – доноров Курской областной станции переливания крови (группа контроля). У всех участников исследования производили забор 6 мл венозной крови натощак. Геномную ДНК выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование rs3810252, rs8496 и rs755892 гена *DNAJB1* проводили методом MALDI-TOF на геномном времяпролетном масс-спектрометре MassArray Analyzer 4. Ассоциации генотипов с риском СД2 изучали методом логистической регрессии с помощью программы SNPStats (<https://www.snptest.net>). Ассоциация считалась значимой при $p < 0,05$.

Результаты. Частоты генотипов гена *DNAJB1* находились в равновесии Харди – Вайнберга. Обнаружены выраженные ассоциации относительно сниженного риска развития СД2 у жителей ЦР: генотип rs3810252-A/G ($p = 0,0004$, $Q = 0,005$) и аллель rs3810252-A ($p = 0,0001$, $Q = 0,001$); генотип rs8496-G/T ($p = 0,006$, $Q = 0,09$) аллель rs8496-G ($p = 0,006$, $Q = 0,06$). В то же время, носительство генотипа rs755892-A/A ($p < 0,0001$, $Q = 0,001$) и аллеля rs755892-A ($p < 0,0001$, $Q = 0,001$) *DNAJB1* сопряжено с повышенным риском развития СД2 независимо от пола, возраста и индекса массы тела (ИМТ) пациентов. Анализ гаплотипов гена *DNAJB1* выявил несколько значимых ассоциаций: гаплотип H2: rs3810252A- rs8496T- rs755892A ассоциировался с повышенным риском СД2 ($p = 0,01$, $Q = 0,04$), гаплотипы H4: GTG ($p = 0,002$,

Q = 0,01) и H6: AGG (p = 0,03, Q = 0,06) показали сниженный риск в плане развития заболевания. Ассоциации сохранили свою значимость при введении поправок на пол, возраст и ИМТ.

Выводы. Впервые установлены ассоциации полиморфных вариантов rs3810252, rs8496 и rs755892 в регуляторном участке гена, кодирующего белок теплового шока гена *DNAJB1*, с развитием СД2, тем самым демонстрируя потенциальную вовлеченность исследованного гена в патогенез заболевания.

Работа выполнена по гранту Российского научного фонд № 22-25-00585.

Список литературы

1. Marrocco T., Tran S., Zhu V., et al. A small molecule UPR modulator for diabetes identified by high throughput screening // *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2021. Vol. 11, No. 12. P. 3983–3993.
2. Diane A., Abunada H., Khattab N., et al. Role of the DnaJ/Hsp40 family in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes // *Ageing Research Reviews*. 2021. No. 67. P. 101313.
3. Sun H., Saeedi P., Karuranga S., et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 // *Diabetes research and clinical practice*. 2022. No. 183. P. 109119.

Анализ метилома различных форм предопухолевых изменений бронхиального эпителия посредством полногеномного бисульфитного секвенирования

Пономарева А. А.¹, Щеголева А. А.¹, Гервас П. А.¹, Геращенко Т. С.¹, Панкова О. В.¹,
Ершов Н. И.², Перельмутер В. М.¹, Чердынцева Н. В.¹, Денисов Е. В.¹
¹г. Томск, НИИ онкологии Томского национального исследовательского
медицинского центра СО РАН,
г. Новосибирск, Институт цитологии и генетики СО РАН
anastasia-ponomaryova@rambler.ru

Введение. Плоскоклеточный рак легкого (ПКРЛ) возникает в результате прогрессивно развивающихся на фоне хронического воспаления морфологических изменений эпителия бронхов: базальноклеточной гиперплазии (БКГ), плоскоклеточной метаплазии (ПМ) и дисплазии (Д). В литературе представлены данные о том, что встречаются разные варианты сочетаний предопухолевых изменений бронхиального эпителия: изолированная БКГ (ИБКГ), комбинации БКГ с ПМ (пмБКГ) и ПМ с дисплазией (дПМ). Метилирование ДНК является одним из ранних событий малигнизации. Идентификация молекулярных сигнатур предопухолевых изменений имеет фундаментальную значимость и расширяет представления о патогенезе рака легкого, открывает возможности для идентификации маркеров прогноза. Целью настоящей работы явилось изучение профиля метилирования ДНК различных предопухолевых изменений бронхиального эпителия с целью выявления дифференциально-метилированных регионов (ДМР) на ранних этапах предопухолевого процесса.

Материалы и методы. С помощью лазерной микродиссекции (PALM, Carl Zeiss) получали образцы БКГ и нормальной ткани бронхиального эпителия (на расстоянии 5 см от опухолевого очага) от больных с диагнозом ПКРЛ (n = 24). Для приготовления ДНК-библиотек с целью последующего полногеномного бисульфитного секвенирования использовали набор Pico Methyl-Seq Library Prep Kit (ZymoResearch, США). Секвенирование проводили на платформе HiSeq X (Illumina, США).

Результаты. При сравнении ИБКГ и нормального эпителия бронхов выявлены ДМР в составе генов *CDK2*, *PELP1*, вовлеченных в регуляцию клеточного цикла. При сравнении ИБКГ и пмБКГ выявлены ДМР в составе генов *RNMT*, *HPN*, ассоциированных с *MET*-зависи-

мым сигнальным каскадом, и генов *PIGZ*, *PIGV*, опосредующих синтез гликозилфосфатидилинозитола. При сравнении пмБКГ и бкгПМ выявлены ДМР в составе генов, участвующих в митохондриальном транспорте ионов кальция (*AFG3L2*, *STOML2*, *PMPCB*, *MICU1*, *AKAP1*), в регуляции иммунного ответа (*UBE2I*) и клеточного цикла (*CLTC*, *AP2M1*, *WWP2*, *GIT2*, *DEPDC1B*). При сравнении бкгПМ и дПМ выявлены ДМР в составе генов, вовлеченных в IL-23 сигнальный путь (*IL-23*, *IL-23R*, *IL12B*, *IL12RB1*), а также транспорт пероксисом (*FIS1*). При сравнении дПМ и дисплазии выявлены ДМР в составе генов *TGFA*, *BTC*, *PICK3CA*, *UBC*, *RPS27A*, *USP7*, *CSNK2A*, *CSNK1E*, ассоциированных с NRIF-, EGFR-, PI3K/АКТ-, WNT-сигнальными путями. При сравнении дисплазии и опухоли выявлены ДМР в составе генов *APAF1*, *TP63*, *CASP10*, *ATM*, *EGFR*, *NOTCH3*, ассоциированных с TP53, EGFR, NOTCH3-сигнальными каскадами.

Выводы. Выявлены значимые различия в профиле метилирования ДНК различных форм БКГ, ПМ и дисплазии. Вероятно, дисрегуляция выявленных генов посредством гипер- или гипометилирования лежит в основе различных «сценариев» предопухолевого процесса в бронхиальном эпителии и дальнейшей злокачественной трансформации. Необходимы дальнейшие исследования механизмов вовлеченности выявленных эпигенетических aberrаций в предопухолевый процесс и развитие ПКРЛ.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-29-06002.

Разработка методики мультиплексного анализа на основе специализированного гидрогелевого биочипа с одновременным определением индекса avidности аутоантител к антигенам ткани щитовидной железы

*Соколова В. В., Кулагина Е. В., Грядунов Д. А., Савватеева Е. Н.
г. Москва, Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН
sokolovavera99@mail.ru*

Введение. Аутоиммунные заболевания щитовидной железы (АИЗЩЖ) широко распространены в популяции. Аутоантитела (аутоАТ) к антигенам (АГ) ткани ЩЖ могут быть обнаружены в сыворотке крови до клинической манифестации заболевания. Выявление аутоАТ играет роль вспомогательного диагностического критерия, поскольку аутоАТ могут быть выявлены у здоровых лиц и пациентов с неаутоиммунными патологиями. В то же время определение avidности аутоАТ, характеризующей суммарную силу взаимодействий между аутоАТ и АГ, может быть дополнительной характеристикой, потенциально позволяющей повысить специфичность анализа. Целью работы являлось создание специализированного гидрогелевого биочипа с иммобилизованными АГ и реализация методики мультиплексного анализа аутоАТ с одновременным определением индекса avidности (ИА) аутоАТ к АГ ткани ЩЖ и белкам-кандидатам.

Материалы и методы. Разработан гидрогелевый биочип и метод мультиплексного анализа на его основе для выявления и одновременного определения ИА аутоАТ к тиреопероксидазе, тиреоглобулину, трийодтиронину, тироксину, натрий-йод симпортеру, рецептору тиреотропного гормона, пендрину, карбоангидразе-2 и пируваткиназе. Процедура анализа включала инкубацию на биочипе образца сыворотки крови с образованием в элементах биочипа комплексов иммобилизованных антигенов с аутоАТ, добавление хаотропного агента на биочип и детекцию неразрушенных комплексов «иммобилизованный антиген – аутоантитело» с использованием флуоресцентно-меченных антивидовых антител против иммуноглобулинов человека класса G. Для определения индекса avidности аутоАТ рассчитывали отношение флуоресцентного сигнала, полученного от каждого антигена при анализе, включающего стадию обработки хаотропным агентом, к результату измерения без такой обработки.

Результаты. Метод был апробирован на образцах сыворотки крови пациентов ($n = 117$), включая пациентов с АИЗЩЖ ($n = 28$), неаутоиммунными ЩЖ ($n = 16$) и здоровых доноров ($n = 31$). Установлено, что ИА для разных аутоАТ ЩЖ носит индивидуальный характер для каждого пациента. На примере аутоАТ к тиреопероксидазе (ТПО) продемонстрировано, что созданный метод позволяет уменьшить долю ложноположительных результатов. Для групп пациентов с АИЗЩЖ, неаутоиммунными ЩЖ и здоровых доноров обнаружено различие в медианах ИА для аутоАТ к ТПО.

Выводы. Полученное различие индекса avidности для аутоАТ к тиреопероксидазе может представлять практическую ценность для повышения специфичности анализа при выявлении носителей аутоАТ – маркеров развития АИЗЩЖ.

Список литературы

1. Correa V. A., Rodrigues T. S., Portilho A. I., et al. Modified ELISA for antibody avidity evaluation: The need for standardization // *Biomedical Journal*. 2021. Vol. 44, No. 4. P. 433–438.
2. Gryadunov D. A., Shaskolskiy B. L., Nasedkina T. V., et al. The EIMB Hydrogel Microarray Technology: Thirty Years Later // *Acta Naturae*. 2018. Vol. 10, No. 4. P. 4–18.
3. Savvateeva E. N., Yukina M. Y., Nuralieva N. F., et al. Multiplex Autoantibody Detection in Patients with Autoimmune Polyglandular Syndromes // *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. No. 22. P. 5502.

Раздел V
ГЕНЕТИКА НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ И ПСИХИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ

Ингибирование киназной активности LRRK2 восстанавливает функцию глюкоцереброзидазы, но не влияет на уровень общего альфа-синуклеина в пациент-специфичных клетках при болезни Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене *GBA1* и *LRRK2*

Башарова К. С.¹, Безрукова А. И.^{1, 2}, Григорьева Е. В.³, Байдакова Г. В.^{1, 4},
Павлова С. В.³, Милюхина И. В.^{1, 5}, Захарова Е. Ю.⁴, Пчелина С. Н.^{1, 2}, Усенко Т. С.^{1, 2}

¹г. Гатчина, Петербургский институт ядерной физики
им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт»,
dir@npi.nrcki.ru

²г. Санкт-Петербург, Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И. П. Павлова,
info@Ispbgmu.ru

³г. Новосибирск, Институт цитологии и генетики СО РАН,
icg-adm@bionet.nsc.ru

⁴г. Москва, Медико-генетический научный центр им. акад. Н. П. Бочкова,
labnbo@med-gen.ru

⁵г. Санкт-Петербург, Институт мозга человека РАН,
office@ihb.spb.ru

Введение. Мутации в гене *GBA1*, кодирующем лизосомный фермент глюкоцереброзидазу (GCase), являются фактором высокого риска болезни Паркинсона (БП), характеризующейся гибелью дофаминергических нейронов и накоплением белка альфа-синуклеина (α Syn). Показана функциональная связь между GCase и обогащенной лейциновыми повторами киназой 2 (LRRK2), в частности, влияние ингибирования киназной активности LRRK2 на активность GCase в клетках пациентов с БП, ассоциированной с мутациями в гене *GBA1* (GBA-БП).

Целью работы является оценка влияния селективного ингибитора киназы LRRK2 MLi-2 на активность, уровень фермента GCase и концентрацию его субстрата гексозилсфингозина (HexSph), а также на уровень общего белка α Syn в пациент-специфичных клетках с GBA-БП, клетках пациентов с БП, ассоциированной с мутациями в гене *LRRK2* (LRRK2-БП) и в контрольных образцах.

Материалы и методы. Получены первичные культуры макрофагов периферической крови (ПКМПК) от восьми пациентов с GBA-БП, трех пациентов с LRRK2-БП и семь образцов контроля. Получены также культуры дофаминергических нейронов, выделенных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК-ДН) от пациента с GBA-БП, пациента с LRRK2-БП и здорового донора (контрольный образец). Культуры инкубировали с добавлением MLi-2 и в его отсутствие. Активность GCase и концентрацию HexSph оценивали методом ВЭЖХ-МС/МС. Относительный уровень GCase определяли методом вестерн-блоттинга. Оценку уровня общего белка α Syn проводили методом ИФА.

Результаты. При культивировании клеток без MLi-2 установлено снижение активности GCase в ИПСК-ДН пациента с GBA-БП по сравнению с контролем и LRRK2-БП ($p < 0,05$), а также снижение относительного уровня GCase в культуре пациента с GBA-БП в сравнении с контролем ($p = 0,095$). Концентрация HexSph и уровень общего белка α Syn в исследуемых группах не отличались ($p > 0,05$). В присутствии MLi-2 выявлено увеличение активности GCase в ИПСК-ДН пациентов с GBA-БП и LRRK2-БП ($p < 0,05$), увеличение относительного

уровня GCase в ИПСК-ДН пациента с GBA-БП ($p = 0,008$) до уровня, наблюдаемого в ИПСК-ДН контроля без MLi-2 ($p > 0,05$). Различий в уровне общего белка α Syn и концентрации HexSph в исследуемых группах не выявлено. Аналогичные результаты получены в ПКМПК, а именно снижение активности GCase в группе культур от пациентов с GBA-БП по сравнению с контролем без MLi-2 ($p = 0,038$), восстановление активности GCase в группе образцов от пациентов с GBA-БП с MLi-2 ($p = 0,016$) и отсутствие изменений в концентрации HexSph ($p > 0,05$).

Выводы. Полученные результаты подтверждают возможную роль LRRK2 в регуляции функции GCase в различных клеточных линиях, однако ингибирование киназной активности LRRK2 не влияет на уровень общего α Syn. Необходимы дальнейшие исследования оценки пользы ингибирования LRRK2 как возможного подхода для терапии пациентов с болезнью Паркинсона.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 22-25-00501.

Полиморфные варианты гена *BDNF* при аффективных расстройствах

Вялова Н. М., Михалицкая Е. В.
г. Томск, НИИ психического здоровья
Томского Национального исследовательского медицинского центра РАН,
natarakitina@yandex.ru

Введение. Аффективные расстройства являются серьезной социально-экономической и медицинской проблемой современного общества. Этиологическая неоднородность и различная выраженность клинических проявлений могут влиять на течение аффективных расстройств, что затрудняет их диагностику и лечение. Мозговой нейротрофический фактор BDNF участвует в регуляции структуры нервной ткани и пластичности нейронов. Согласно гипотезе нейротрофинов депрессия является вторичной по отношению к измененной экспрессии BDNF в головном мозге. Исследования аффективных расстройств в последние годы чаще касаются нейромедиаторных систем, а механизмам нейропластичности уделяется недостаточное внимание.

Материалы и методы. Объектом исследования стали 228 пациентов с аффективными расстройствами (МКБ-10: F31, F32, F33). В качестве контрольной группы в исследование включены 191 соответствующих по возрасту относительно здоровых лиц. В исследовании применялись следующие шкалы: SIGH-SAD, CGI. Образцы геномной ДНК получали фенол-хлороформным методом. Генотипирование полиморфных вариантов гена *BDNF* (rs6265, rs7124442) проводили методом ПЦР в реальном времени на амплификаторе QuantStudio 5 (Applied Biosystems, США). Исследование проводилось на базе ЦКП «Медицинская геномика» Томского НИМЦ.

Результаты. При сравнении группы пациентов и контрольной группы выявлена ассоциация варианта rs7124442*CC гена *BDNF* с аффективными расстройствами (OR = 0,32, 95 % CI: 0,12–0,85, $p = 0,039$). Изучение связи полиморфных вариантов гена *BDNF* с клиническими характеристиками аффективного расстройства выявило ассоциацию варианта rs6265*CC с меньшей тяжестью текущего депрессивного эпизода, оцененной по шкале CGI-S на 28-й день терапии ($p = 0,003$); rs7124442*CC – с большей выраженностью типичной депрессивной симптоматики, оцененной по шкале SIGH-SAD на 14-й день терапии ($p = 0,019$).

Выводы. Полиморфные варианты rs6265, rs7124442 гена *BDNF* ассоциированы с наличием и динамикой депрессивной симптоматики.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 23-15-00338.

Список литературы

1. Бохан Н. А., Мандель А. И., Иванова С. А. Старые и новые проблемы наркологии в контексте междисциплинарных исследований // Вопросы наркологии. 2017. № 1. С. 26–62.
2. Михалицкая Е. В., Левчук Л. А. Нейропластичность мозга: мозговой нейротрофический фактор и протеинкиназные сигнальные пути: обзор литературы // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2022. Т. 3, № 116. С. 5–14.
3. Lozupone M., Seripa D., Stella E., et al. Innovative biomarkers in psychiatric disorders: a major clinical challenge in psychiatry // Expert Rev. Proteomics. 2017. Vol. 4, No. 9. P. 809–824.
4. Molendijk M. L., Spinhoven P., Polak M., et al. Serum BDNF concentrations as peripheral manifestations of depression: evidence from a systematic review and meta-analyses on 179 associations (n = 9484) // Mol Psychiatry. 2014. Vol. 19, No. 7. P. 791–800.
5. Borroto-Escuela D. O., Ambrogini P., Chruścicka B., et al. The Role of Central Serotonin Neurons and 5-HT Heteroreceptor Complexes in the Pathophysiology of Depression: A Historical Perspective and Future Prospects // International Journal of Molecular Sciences // 2021. Vol. 22, No. 4. P. 1927.

Динамика бифуркаций экспрессии функциональных генных модулей при психиатрических заболеваниях

Захарян Р.^{1, 2}, Авагян С.³, Биндер Г.⁴, Аракелян А.^{1, 2, 3}

¹Армения, г. Ереван, Российско-Армянский (славянский) университет

²Армения, г. Ереван, Институт молекулярной биологии НАН РА

³Армения, г. Ереван, Армянский институт биоинформатики

⁴Германия, г. Лейпциг, Междисциплинарный институт биоинформатики Лейпцигского университета

Введение. Молекулярные события, лежащие в основе развития, проявления и течения шизофрении, биполярного расстройства и большого депрессивного расстройства, охватывают период от эмбрионального периода жизни до пожилого возраста. Однако мало что известно о динамике экспрессии генов при этих расстройствах на ранних этапах развития ввиду относительно позднего возраста манифестации.

Материалы и методы. Проведен вторичный анализ посмертных наборов данных префронтальной коры с использованием методов биоинформатики и машинного обучения для идентификации дифференциально экспрессируемых модулей генов, связанных со старением и заболеваниями. Работа была направлена также на определение их точек временных пертурбаций и оценки обогащения экспрессией локусов количественных признаков (eQTL).

Результаты. Установлено раннее, среднее и позднее нарушение регуляции экспрессии функциональных генных модулей, участвующих в развитии нервной системы, пластичности, гомеостазе и иммунном ответе. Это подтверждает гипотезу о том, что множественные «удары» на протяжении всей жизни, а не единичное событие в раннем возрасте способствуют проявлению заболевания. Более того, изменение во времени функциональных генных модулей связано с генетическими локусами, влияющими на экспрессию генов, что подчеркивает важную роль генетических факторов в динамике экспрессии генов и развитии фенотипов заболеваний.

Выводы. Полученные результаты указывают на важность временных исследований нарушения экспрессии генов до возраста манифестации заболевания с целью выяснения молекулярных механизмов психических расстройств.

Иммунологические маркеры когнитивного снижения и деменции

Зоркина Я. А.

г. Москва, Научно-клинический исследовательский центр нейropsиxиатрии
Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н. А. Алексеева
zorkina.ya@serbsky.ru

Введение. Деменция – это синдром, при котором снижение когнитивных функций проявляется заметнее, чем при нормальном старении. Легкое когнитивное расстройство (ЛКР) занимает промежуточное положение и может со временем переходить в деменцию. Литературные данные подтверждают роль воспаления в патогенезе когнитивных нарушений и указывают на диагностическую роль маркеров воспаления. Поскольку единичные показатели имеют низкую диагностическую ценность, для повышения эффективности диагностики патологий необходимо создание панелей биомаркеров.

Целью исследования было выявление значимых изменений панели воспалительных биомаркеров у пациентов с деменцией и ЛКР: сравнение биомаркеров в крови у пациентов с деменцией и с ЛКР при первом наблюдении с их содержанием у тех же пациентов с ЛКР через 1 год.

Материалы и методы. В исследовании принимали участие пациенты с диагнозом деменция (МКБ-10: F00, F01, F03) – 59 человек, и ЛКР (F06.7) – 136 человек в возрасте старше 65 лет. Оценку когнитивных функций проводили по Монреальской когнитивной шкале (MoCA) и краткой шкале оценки психического статуса (MMSE). Оценку когнитивного статуса и определение биомаркеров у пациентов с ЛКР проводили в двух точках наблюдения с разницей в один год, у пациентов с деменцией – однократно. Измерение концентрации в сыворотке крови следующих маркеров проводили с использованием технологии мультиплексного иммуноанализа: EGF, FGF-2, Eotaxin-1, TGF α , G-CSF, Fractalkine, INF α 2, GRO, IL-10, MCP-3, MDC, sCD40L, IL-1Ra, IL-1a, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IP-10, MCP-1, MIP-1 β , TNF α , VEGF, IL-12P70, Flt-3L, GM-CSF.

Результаты. Средний балл по шкале MMSE составил 27 ± 1 для пациентов с ЛКР и $11,0 \pm 2,5$ – для пациентов с деменцией, по шкале MoCA – 24 ± 2 и 6 ± 3 соответственно. При сравнении двух групп у пациентов с деменцией наблюдалось статистически значимое увеличение следующих параметров: EGF, Eotaxin-1, GRO, MDC, sCD40L, IL-8, IP-10, MCP-1, MIP-1 β , TNF α ($p < 0,001$ для всех параметров). В группе пациентов с деменцией были выявлены отрицательные корреляции Eotaxin-1, IP-10, TNF α с общим баллом по MMSE и MoCA, MIP-1 β – с общим баллом MoCA.

Концентрации EGF, Eotaxin-1, GRO, IL-8, MCP-1 ($p < 0,001$ для всех параметров) увеличились через 1 год после наблюдения у пациентов с ЛКР. Корреляционный анализ не показал связи между иммунными параметрами и показателями когнитивных шкал в обеих точках наблюдения.

Выводы. Из 26 исследуемых воспалительных маркеров EGF, Eotaxin-1, GRO α , IL-8, MCP-1 имеют статистическое значение одновременно при сравнении групп пациентов с различным когнитивным статусом и при долгосрочном наблюдении пациентов с ЛКР. Данные маркеры потенциально могут иметь прогностическое значение для определения риска перехода ЛКР в деменцию.

Список литературы

1. Dunne R. A., Aarsland D., et al. Mild cognitive impairment: the Manchester consensus // Age Ageing. 2021. Vol. 50, No. 1. P. 72–80.
2. Bradburn S., Murgatroyd C., Ray N. Neuroinflammation in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: A meta-analysis // Ageing research reviews. 2019. No. 50. P. 1–8.

**Создание клеточной модели для изучения вклада лейциновой киназы LRRK2
в развитие окислительного стресса**

Капитошина Е. В.

г. Новосибирск, Институт цитологии и генетики СО РАН

г. Новосибирск, Новосибирский государственный университет,

kapitoshina@list.ru

Введение. Возникновение болезни Паркинсона с поздним началом ассоциировано с патогенными генетическими вариантами в гене *LRRK2*, вызывая доминантно наследуемую форму заболевания. Продуктом гена является большой белок дардарин, который обладает ГТФазной и киназной активностями и вовлечен во многие клеточные процессы. В клетке он локализуется в цитоплазме и наружной мембране митохондрий, а также связан с микротрубочками и аппаратом Гольджи. Существует предположение, что патогенные варианты *LRRK2*, нарушающие нормальное функционирование лизосом, могут быть причиной митохондриальной дисфункции и повышения уровня активных форм кислорода, которые часто наблюдаются при нейродегенерации. Для визуализации цитологических процессов, в частности окислительного стресса используются генетически-кодируемые биосенсоры, имеющие в своем составе редокс-чувствительный флуоресцентный белок roGFP2. Он может менять свои спектральные характеристики в зависимости от окисленного/восстановленного состояния, возбуждаясь в окисленном состоянии при длине волны 405 нм, а в восстановленном – при 488 нм. Экспрессия биосенсора окислительно-восстановительного потенциала глутатиона GRX1-roGFP2 в культуре дофаминергических нейронов поможет изучить специфические пути и причины возникновения болезни Паркинсона. Цель исследования – создание клеточной модели, несущей трансген биосенсора окислительно-восстановительного потенциала глутатиона GRX1-roGFP2 для изучения вклада лейциновой киназы *LRRK2* в развитие окислительного стресса.

Материалы и методы. Линия индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) – LR-21 (ICGi043-A), полученная от пациента с болезнью Паркинсона, несла мутацию с.6055G > A в гене *LRRK2*. В локус *AAVS1* данной линии с помощью системы CRISPR/Cas9 были интегрированы последовательности биосенсоров с цитоплазматической (Cyto-GRX1-roGFP2) и митохондриальной (Mito-GRX1-roGFP2) локализацией. После селекции на антибиотиках (пурамицин и неомицин) и механического отбора устойчивых колоний проверяли наличие нецелевых встроок трансгена и локуса *AAVS1* дикого типа (без встройки) методом ПЦР.

Результаты. Отобрано по 3 клон с каждой встройкой биосенсора, которые были охарактеризованы для подтверждения статуса плюрипотентности. Анализ активности встроенного генетически-кодируемого биосенсора проводили с добавлением диамида и дитиотреитола в культуральную среду, что позволило достичь максимально окисленного и восстановленного состояния биосенсора, соответственно. По соотношению сигналов окисленной и восстановленной формы roGFP2 оценили динамический диапазон биосенсора и доказали его корректную работу. ИПСК со встройками биосенсора запущены в нейрональную дифференцировку для получения дофаминергических нейронов.

Выводы. Созданная клеточная модель позволит оценить влияние генетического варианта *LRRK2* (с.6055G > A) на окислительно-восстановительный потенциал глутатиона в дофаминергических нейронах.

Работа поддержана грантом РФФИ № 23-15-00224.

Список литературы

1. Григорьева Е. В. и др. Создание линии индуцированных плюрипотентных стволовых клеток ICGi043-A с помощью репрограммирования мононуклеарных клеток периферической

крови пациента с болезнью Паркинсона, ассоциированной с патологическим вариантом р.G2019S LRRK // Онтогенез. 2023. Т. 54, № 1. С. 79–86.

Активность глюкоцереброзидазы и уровень альфа-синуклеина в крови пациентов с болезнью Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене *GBA1*

Копытова А. Э.^{1,2,3}, Журавлев А. С.^{2,3}, Усенко Т. С.^{1,2}, Безрукова А. И.^{1,2},
Байдакова Г. В.⁴, Николаев М. А.^{1,2}, Лавринова А. О.², Тимофеева А. А.¹,
Милыхина И. В.^{1,5}, Захарова Е. Ю.⁴, Емельянов А. К.^{1,2}, Пчелина С. Н.^{1,2}

¹г. Санкт-Петербург, Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И. П. Павлова,
info@lspbgtmi.ru

²г. Гатчина, Петербургский институт ядерной физики
им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт»,
dir@pnpi.nrcki.ru

³г. Сургут, Сургутский государственный университет,
secretar@surgu.ru

⁴г. Москва, Медико-генетический научный центр им. акад. Н. П. Бочкова,
mgnc@med-gen.ru

⁵г. Санкт-Петербург, Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой РАН,
office@ihb.spb.ru

Введение. Мутации в гене глюкоцереброзидазы 1 (*GBA1*), кодирующем лизосомный фермент глюкоцереброзидазу (GCase), являются наиболее распространенным генетическим фактором риска болезни Паркинсона (БП), увеличивая риск БП в 6–7 раз. Мутации в гене *GBA1* приводят к снижению активности глюкоцереброзидазы (GCase) в крови пациентов с БП, ассоциированной с мутациями в гене *GBA1* (GBA-БП), а также у бессимптомных носителей мутаций в гене *GBA1*. Однако не у всех носителей мутации в гене *GBA1* развивается БП в течение жизни.

Целью работы является оценка активности GCase и концентрации альфа-синуклеина в CD45+ клетках крови у пациентов с GBA-БП и бессимптомных носителей мутаций в гене *GBA1* (GBA-носители) и спорадической БП (сБП), а также проведение корреляционного анализа между активностью GCase и уровнем альфа-синуклеина в крови пациентов исследуемых групп.

Материалы и методы. В исследование были включены 25 пациентов с GBA-БП (средний возраст 61,74 ± 9,91 лет), 16 GBA-носителей (средний возраст 53,93 ± 8,19 лет), 147 пациентов с сБП (средний возраст 63,36 ± 9,26 лет) и 154 лиц контрольной группы (средний возраст 62,02 ± 9,06 лет). Уровень альфа-синуклеина в CD45+ клетках и активность GCase в сухом пятне периферической крови оценивали методами ИФА и жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией, соответственно.

Результаты. Повышенный уровень альфа-синуклеина в CD45+ клетках был продемонстрирован в группах GBA-БП (10,8 (0,68–51,40) нг/мл) и сБП (9,28 (0,63–65,60) нг/мл), а также у GBA-носителей (12,8 (1,22–41,30) нг/мл) по сравнению с контролем (6,56 (0,46–45,70) нг/мл) ($p = 0,0043$, $p = 0,0002$ и $p = 0,032$ соответственно). Активность GCase была снижена у пациентов с GBA-БП (4,28 (1,51–13,20) мМ/л/ч) и GBA-носителей (4,67 (2,33–10,40) мМ/л/ч) по сравнению с пациентами с сБП (7,60 (3,33–14,70) мМ/л/ч) ($p = 0,00027$ и $p = 0,003$ соответственно) и контрольной группой (8,14 (1,55–32,10) мМ/л/ч) ($p < 0,0001$ и $p < 0,0001$ соответственно). Корреляционный анализ выявил обратную корреляцию активности GCase и уровня альфа-синуклеина у пациентов с GBA-БП ($R = -0,53$, $0,017$), но не в группе GBA-носителей ($R = -0,39$, $p = 0,15$).

Выводы. Полученные результаты подтверждают, что активность GCase и метаболизм альфа-синуклеина в клетках периферической крови взаимосвязаны при БП. Мутации в гене *GBA1* могут влиять на уровень альфа-синуклеина в CD45+ клетках крови.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда научно-технологического развития Югры в рамках научного проекта № 2023-123-05.

Ассоциативный анализ полиморфных вариантов гена адаптерного белка синтазы оксида азота-1 с метаболическим синдромом у больных шизофренией

*Меднова И. А., Пожидаев И. В., Тигунцев В. В., Падерина Д. З., Бойко А. С.,
Федоренко О. Ю., Корнетова Е. Г., Иванова С. А.
г. Томск, НИИ психического здоровья,
Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН,
i.mednova@ya.ru*

Введение. Распространенность метаболического синдрома (МС) у пациентов с шизофренией в 2–4 раза выше, чем в общей популяции. Продемонстрирована роль генетических факторов в развитии МС как побочного эффекта антипсихотической терапии. Одним из связующих звеньев в формировании психических и соматических расстройств может быть дисбаланс в системе оксида азота. Обнаружены ассоциации ряда полиморфизма гена адаптерного белка нейрональной синтазы оксида азота-1 (*NOS1AP*) с шизофренией, сахарным диабетом, ишемической болезнью сердца. Изучение ассоциаций полиморфизма гена *NOS1AP* с МС ранее не проводилось. Целью исследования являлось выявление возможной ассоциации полиморфных вариантов гена *NOS1AP* с МС у больных шизофренией.

Материалы и методы. Было обследовано 489 пациентов (20–55 лет) с диагнозом шизофрения (МКБ-10: F20.); у 131 пациента (26,8 %) был МС (IDF, 2005). Генотипирование проводили методом ПЦР-РВ на амплификаторе QuantStudio 5 (Applied Biosystems, США; ЦКП «Медицинская геномика», Томский НИМЦ). Статистический анализ проводился с использованием программы R (v.4.0.4). Распределение частот генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди – Вайнберга. Для изучения взаимосвязи между МС и выбранными полиморфизмами использовали метод логистической регрессии с включением пола и возраста в качестве ковариат.

Результаты. Согласно результатам генотипирования двух полиморфных вариантов rs12029454 и rs10494366 гена *NOS1AP* была обнаружена ассоциация полиморфизма rs10494366 гена *NOS1AP* с МС у пациентов с шизофренией ($p = 0,0046$). Аллель T rs10494366 обладает предрасполагающим эффектом (ОШ: 1,60; 95 % ДИ: 1,18–2,16), а аллель G rs10494366 – защитным эффектом (ОШ: 0,63; 95 % ДИ: 0,46–0,85) относительно развития МС ($p = 0,0021$).

Выводы. Полиморфный вариант rs10494366 гена *NOS1AP* может влиять на формирование МС у пациентов с шизофренией.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-75-10088.

Список литературы

1. Kornetova E. G., et al. Comparative characteristics of the metabolic syndrome prevalence in patients with schizophrenia in three western Siberia psychiatric hospitals // *Frontiers in Psychiatry*. 2021. No. 2. P. 661174.
2. Федоренко О. Ю., Иванова С. А., Корнетова Е. Г. Роль полиморфизма генов дофаминовой и глутаматной систем в клинической гетерогенности шизофрении и развитии антипсихотик-индуцированных побочных эффектов // *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2023. Т. 1, № 118. С. 5–13.

3. Nasyrova R. F., et al. Genetic Factors of Nitric Oxide's System in Psychoneurologic Disorders // International Journal of Molecular Sciences. 2020. Vol. 21, No. 5. P. 11–34.

4. Л.А. Кузнецова, Н.Е. Басова. Роль адаптерного белка нейрональной NO-синтазы в патогенезе метаболического синдрома и сахарного диабета 2 типа // Сибирский научный медицинский журнал. 2023. Т. 43, № 5. С. 34–49.

Современные классификационные системы для диагностики болезни Альцгеймера

Морозова И. О.

г. Москва, Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н. А. Алексеева,
irinashchelkanova@gmail.com

Введение. По данным Всемирной Организации Здравоохранения, во всем мире насчитывается более 55 млн человек с деменцией, из них 50–70 % приходится на болезнь Альцгеймера (БА). В России количество диагностированных случаев БА в несколько раз ниже общемировых данных. В связи с этим актуальным вопросом остается правильность дифференциальной диагностики деменций и постановки диагноза БА. Кроме анамнестических и клинических данных выявлению БА могут помочь биохимические маркеры заболевания в спинномозговой жидкости (СМЖ), такие как β -амилоид и тау-белок. Диагностика БА необходима для определения лекарственного препарата первой линии с целью достижения наибольшей эффективности проводимой терапии.

Материалы и методы. В исследование включено 64 пациента Психиатрической клинической больницы № 1 им. Н. А. Алексеева с диагнозом деменции в соответствии с МКБ-10 и баллами по шкале MMSE от 24 и ниже. У пациентов определяли концентрацию тау-белка, фосфорилированного тау, β -амилоиды 40 и 42 в спинномозговой жидкости (СМЖ) с использованием мультиплексной технологии MILLIPLEX MAP Human Amyloid Beta and Tau Magnetic Bead Panel (Merck, Германия). На основе международной классификации «А/Т/Н» (амилоид, гиперфосфорилированный тау и нейродегенерация) среди всех типов деменции по соотношению белков устанавливали диагноз «болезнь Альцгеймера» и сравнивали с диагнозами клиницистов. Также анализировали визуализационные исследования мозга (КТ и/или МРТ), проведенные менее чем за 6 месяцев до взятия пациента в исследование, на основании данных истории болезни.

Результаты. Установлена корреляция биомаркеров в СМЖ между собой, а также с возрастом пациента. По классификации «А/Т/Н» и в соответствии с рекомендациями производителя мультиплексного теста в качестве пороговых значений использовали следующие величины: $A\beta_{42} < 1\ 013$ пг/мл, $p\tau > 64$ пг/мл, $t\tau > 3\ 252$ пг/мл. В результате процент распространенности БА в нашей выборке составил 75 %, что соответствует данным ВОЗ. В то же время, доля диагнозов «болезнь Альцгеймера», выставленных в стационаре, составила всего 5 %, из которых у всех пациентов были подтверждены соответствующие маркеры в СМЖ. Данные нашего исследования подчеркивают, что БА также сопровождается микро- и макрососудистыми нарушениями головного мозга.

Выводы. Важной задачей врачей-психиатров и врачей-неврологов является наиболее ранняя и точная патогенетическая диагностика деменций и особенно болезни Альцгеймера для правильного выбора индивидуального лечения. Следует отметить возможности применения анализа СМЖ, используя классификацию «А/Т/Н», в диагностике БА в частности и дифференциальной диагностике деменций – в целом.

Список литературы

1. Global action plan on the public health response to dementia 2017–2025. Geneva : World Health Organization, 2017.

2. Ebenau J. L., Timmers T., Wesselman L. M. P., et al. ATN classification and clinical progression in subjective cognitive decline: The SCIENCe project // *Neurology*. 2020. Vol. 95, No. 1. P. e4–e58.

**Новые потенциальные фармакологические шапероны глюкоцереброзидазы:
виртуальный скрининг и оценка эффективности восстановления активности
на первичной культуре макрофагов человека**

*Николаев М. А.^{1,2}, Рычков Г. Н.¹, Копытова А. Э.^{1,2}, Белых Е. А.¹,
Изюмченко А. Д.^{1,2}, Пчелина С. Н.^{1,2}, Емельянов А. К.^{1,2}*

¹*г. Гатчина, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова
НИЦ «Курчатовский институт»*

²*г. Санкт-Петербург, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский
университет им. акад. И. П. Павлова
Nikolaev_MA@pnpi.nrcki.ru*

Введение. Наиболее распространенным фактором повышенного риска развития болезни Паркинсона (БП) являются мутации в гене глюкоцереброзидазы (GBA). В гомозиготном, а также в компаундном гетерозиготном состоянии мутации в данном гене приводят к снижению ферментативной активности глюкоцереброзидазы (ГЦ), повышению уровня ее субстрата гексозилсфингозина (HexSph) в клетках мозга и периферической крови и развитию наследственного заболевания, относящегося к классу лизосомных болезней накопления – болезни Гоше (БГ). Все больше обсуждается использование фармакологических шаперонов ГЦ для терапии как GBA-БП, так и нейропатических форм БГ. Целью работы является оценка влияния новых, потенциальных аллостерических шаперонов ГЦ, выявленных в ходе виртуального скрининга химических соединений, входящих в базу FDA, на активность фермента ГЦ на первичной культуре макрофагов человека.

Материалы и методы. Проведен поиск потенциальных фармакологических шаперонов с использованием метода молекулярного докинга на атомарной модели ГЦ. В исследование были включены 4178 одобренных к применению в клинической практике химических соединений. В результате были отобраны 52, обладающих наименьшей величиной расчетной оценочной функции, характеризующей сродство к белку. Для дальнейшего исследования выбрали 12 соединений, которые можно принимать длительное время. С помощью прогнозируемого сервера ADMET (<http://qsar.chem.msu.ru/admet/>) у данных веществ была проверена способность проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Для выбранных соединений был проведен поиск максимальной нетоксичной концентрации на первичной культуре макрофагов, культивируемых в стандартных условиях (5 %-й CO₂, 37 °С), здоровых добровольцев с использованием набора MTS (Promega, США).

Результаты. Наибольшая вероятность проникновения через ГЭБ оказалась у препаратов Acetaminosalol (44 %), Almitrine (39 %) и Benfotiamine (13 %). Максимальная нетоксичная концентрация для исследуемых соединений (Benfotiamine, Glutathione, Rebamipide) составила 10, 10, 2 мкМ соответственно. Проведена предварительная оценка эффективности всех соединений. Показана способность Benfotiamine восстанавливать активность ГЦ на первичной культуре макрофагов.

Выводы. Отобраны потенциальные фармакологические шапероны ГЦ, обладающие способностью проникать через ГЭБ, для которых на первичной культуре макрофагов человека были подобраны максимально нетоксичные концентрации. При этом в ходе исследования

было выбрано наиболее эффективно восстанавливающее ферментативную активность ГЦ соединение – Benfotiamine. Однако требуется дальнейшее изучение его эффективности на пациентах с вышеописанными заболеваниями.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-00721. Вычисления проводились с использованием ресурсов суперкомпьютерного центра СПбПУ Петра Великого.

Генетическое тестирование болезни Паркинсона: вопросы актуальности внедрения в клиническую практику

Пчелина С. Н.^{1, 2}

¹*г. Санкт-Петербург, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова,
info@Ispbgmu.ru*

²*г. Гатчина, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова
НИЦ «Курчатовский институт», dir@pnpi.nrcki.ru*

Введение. Генетическое тестирование направлено на уточнение диагноза, возможность проведения пренатальной диагностики и корректировки лечения. В этой связи спорным моментом до последнего времени являлось генетическое тестирование наследственных форм хронических нейродегенеративных болезней, таких как болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона (БП). БП в настоящее время является хронически прогрессирующим и неизлечимым заболеванием. Также не существует препаратов, способных замедлить нейродегенерацию. Открытие молекулярных причин развития наследственных форм заболевания, в частности БП, ассоциированной с мутациями в генах *GBA1* и *LRRK2* (GBA-БП, LRRK2-БП соответственно), привели к разработке нейропротекторных таргетных молекул. Так, для GBA-БП, характеризующейся снижением активности фермента β-глюкоцереброзидазы (GCase), в качестве перспективной рассматривается терапия фармакологическими шаперонами (ФШ) GCase – малыми молекулами, способствующими правильной сборке мутантного фермента и его транспорта в лизосомы. Для LRRK2-БП, характеризующейся увеличением киназной активности лейцин богатой лейциновыми повторами киназы 2 (LRRK2), в качестве нейропротекторного препарата рассматривается ряд ингибиторов фермента.

Материалы и методы. Нашей группой разработана система скрининга таргетных препаратов для лечения БП на пациент-специфичных клетках и предложен новый ФШ GCase аллостерического типа. Рассматриваются доклинические испытания данной молекулы. Несколько препаратов находятся за рубежом на стадии клинических исследований. В этой связи проведение генетического тестирования, особенно на предмет наследственных форм GBA-БП и LRRK2-БП, приобретает особенную актуальность для формирования групп для проведения клинических исследований.

Результаты. В результате многолетнего скрининга мутаций в генах *GBA1* (L444P, N370S) и *LRRK2* (G2019S, R1441C) при обследовании 1 500 пациентов с БП выявлено 32 пациента GBA-БП и 27 пациентов – с LRRK2-БП. Проведено молекулярно-генетическое обследование их семей. Таким образом, суммарная частота наследственных форм БП для пациентов, с которыми уже сегодня есть возможность быть включенными в клинические исследования, составляет 4 % от всех пациентов с БП.

Выводы. Разрабатываемая нейропротекторная терапия может быть эффективна и при спорадических формах заболевания. При этом целесообразно проводить в первую очередь скрининг мажорных мутаций. Для подтверждения редких наследственных форм БП необходимо применять NGS-панель, в которую входят также и другие гены наследственных форм БП.

Генетические предикторы шизофрении

Савенкова В. И.

г. Москва, Научно-клинический исследовательский центр нейropsychиатрии Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н. А. Алексеева

Введение. Шизофрения, имея распространенность всего 0,8–1 %, является существенной проблемой для общества и здравоохранения из-за условности диагностических критериев и вариативности симптомов. Для изучения генетики этого расстройства перспективно применение моделей прогнозирования полигенного риска (PRS). Для построения таких моделей требуется наличие данных о частотах генетических вариантов в разных популяциях. В данном исследовании изучалось распределение вариантов rs6265, rs10835210 в гене *BDNF*, rs6313 в гене *HTR2A*, rs1800955 в гене *DRD4*, а также оценка взаимосвязи «генотип – фенотип» у пациентов с психическими расстройствами в сравнении с общей популяцией России.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 2 393 испытуемых: 1 639 пациентов с психическими расстройствами из ПКБ № 1 им. Н. А. Алексеева и клинических отделений НМИЦ психиатрии и наркологии им. В. Сербского, а также 754 здоровых добровольцев. Пациенты были разделены на две группы в соответствии с диагнозом: группа расстройств настроения ($n = 219$) и группа расстройств шизофренического спектра ($n = 1\ 420$). Генотипирование проводили методом ПЦР в реальном времени с использованием системы QuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific, США).

Для оценки соответствия равновесию Харди – Вайнберга использовался критерий χ^2 . Анализ связей между генетическими маркерами и снижением когнитивных способностей проводили с использованием сервиса SNPStats. Применяли данные кодоминантной, доминантной, рецессивной и сверхдоминантной моделей. Различия считались значимыми при уровне $p < 0,05$. Значения p для наиболее значимых моделей были скорректированы для множественных сравнений с использованием процедуры FDR с априорным порогом статистической значимости $FDR < 0,05$.

Результаты. При сравнении группы пациентов с психическими расстройствами (без разделения на диагнозы) с контрольной группой были обнаружены ассоциации трех вариантов, но после коррекции FDR только два из них оказались значимыми. Для rs6265 были выявлены значимые ассоциации для гомозигот и гетерозигот в доминантной модели ($OR = 0,76$; 95 % CI = 0,62–0,92, $p = 0,0046$, $FDR = 0,009$). Аллель T была менее распространена в группе пациентов с психическими расстройствами. Также были обнаружены ассоциации для rs1800955 ($OR = 1,37$; 95 % CI = 1,13–1,66, $p = 0,0013$, $FDR = 0,005$), где аллель C чаще встречалась в группе пациентов с психическими расстройствами.

При сравнении группы пациентов с расстройствами настроения с контрольной группой были выявлены ассоциации только по rs1800955. Показаны значимые ассоциации для гомозигот и гетерозигот в доминантной модели, где аллель C чаще встречалась в группе пациентов с расстройствами настроения.

При сравнении контрольной группы с группой пациентов с расстройствами шизофренического спектра были выявлены ассоциации по трем вариантам. Для rs6265 были показаны значимые ассоциации для гомозигот и гетерозигот ($OR = 0,75$; 95 % CI = 0,61–0,91, $p = 0,0041$, $FDR = 0,008$); аллель T была менее распространена в группе пациентов с расстройствами шизофренического спектра. Также были показаны значимые ассоциации для rs1800955 ($OR = 1,34$; 95 % CI = 1,10–1,63, $p = 0,0037$, $FDR = 0,01$), где аллель C чаще встречалась в группе пациентов с расстройствами шизофренического спектра. При сравнении групп пациентов с расстройствами шизофренического спектра и расстройствами настроения генетических ассоциаций выявлено не было.

Выводы. Исследованные генетические варианты имеют значимые ассоциации с психическими расстройствами в общей когорте пациентов с психическими заболеваниями, отличной от контрольной группы. Связь между этими маркерами и психиатрической симптоматикой выявлена у пациентов с шизофренией в сравнении с контрольной группой. Полученные результаты могут расширить понимание генетических основ психических расстройств в российской популяции и предоставить данные для улучшения диагностики в психиатрии.

Список литературы

1. Chong, H. Y., Teoh, S. L., Wu D. B., et al., Global economic burden of schizophrenia: a systematic review // *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2016. No. 12. P. 357–73.

Полигенные модели риска развития болезни Альцгеймера: первая валидация в российской популяции с использованием гидрогелевого биочипа

Федосеева Е. Д.¹, Иконникова А. Ю.¹, Емельянова М. А.¹, Антонова О. В.¹, Филиппова М. А.¹, Юрасов Р. А.¹, Сюняков Т. С.², Зоркина Я. А.^{2,3}, Абрамова О. В.^{2,3}, Андреюк Д. С.², Очнева А. Г.², Павлов К. А.², Савилов В. Б.², Соловьёва К. П.², Курмышев М. В.², Карпенко О. А.², Андрющенко А. В.², Костюк Г. П.², Морозова А. Ю.^{2,3}, Грядунов Д. А.¹

¹г. Москва, Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН,

²г. Москва, Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н. А. Алексеева

³г. Москва, Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В. П. Сербского, *elfed0@mail.ru*

Введение. Наиболее изученным генетическим фактором риска развития болезни Альцгеймера (БА) является аллель $\epsilon 4$ гена *APOE*. Перспективным современным подходом в изучении генетики БА является оценка полигенного риска (ПГР), который учитывает мультипликативное влияние многих генетических маркеров. В частности, была показана взаимосвязь модели ПГР, включающей 21 генетический маркер, с риском и возрастом развития БА, биохимическими показателями в мозге и спинномозговой жидкости, а также динамикой когнитивных функций. Для апробации данной модели в российской популяции проведена разработка метода идентификации генетических маркеров ПГР БА с использованием технологии гидрогелевых биочипов ИМБ РАН.

Материалы и методы. В исследование включено 348 образцов ДНК от пациентов с деменцией (226 женщин и 122 мужчины в возрасте $73,0 \pm 9,9$ лет) и 519 образцов группы доноров без признаков нарушения когнитивных функций (358 женщин и 161 мужчина в возрасте $70,1 \pm 6,7$ лет). Процедура анализа включала мультиплексную амплификацию 23 фрагментов генома человека с последующей аллель-специфичной гибридизацией на биочипах с иммобилизованными олигонуклеотидными зондами.

Результаты исследования. Разработан биочип, позволяющий анализировать 21 маркер ПГР БА, а также аллели $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ гена *APOE*. Создано программное обеспечение, позволяющее осуществлять определение генотипа образцов ДНК и расчет значений ПГР. В исследуемой выборке значения ПГР были статистически значимо выше у пациентов с деменцией по сравнению со здоровыми донорами ($p = 0,001$). Значения ПГР, соответствующие четвертому квартилю, были связаны с повышенным риском деменции (ОШ = 3,52, 95 %-ДИ = 2–6,38, $p < 0,001$). Полученные результаты также подтверждают вклад аллеля $\epsilon 4$ гена *APOE* как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии (ОШ = 7,98 и 1,81, 95 %-ДИ = 2,89–28,11

и 1,31–2,51 соответственно, $p < 0,001$). Регрессионная модель риска развития деменции, которая включала ПГР, аллель $\epsilon 4$ гена *APOE*, а также социальные факторы (наличие семьи, высшего образования и интеллектуального труда), характеризовалась значимой площадью под кривой (AUC = 0,73).

Выводы. Исследуемая модель ПГР БА показала информативность в российской популяции, особенно при учете социальных факторов. Применение созданного на основе биочипа медицинского изделия в лабораторной диагностике позволит проводить генетическое тестирование лиц с осложненным семейным анамнезом «деменция» либо лиц с мягким когнитивным снижением, выявлять носителей риск-ассоциированных генотипов и маршрутизировать таких пациентов на специализированные программы профилактики и реабилитации.

Исследование выполнено в рамках Соглашения с АНО «Московский центр инновационных технологий в здравоохранении» № 0803-4/23.

Список литературы

1. Tosto G., et al. Polygenic risk scores in familial Alzheimer disease // *Neurology*. 2017. Vol. 88, No. 12. P. 1180–1186.
2. Gryadunov D. A., et al. The EIMB Hydrogel Microarray Technology: Thirty Years Later // *Acta Naturae*. 2018. Vol. 10, No. 4. P. 4–18.
3. Ikonnikova A., et al. Evaluation of the Polygenic Risk Score for Alzheimer's Disease in Russian Patients with Dementia Using a Low-Density Hydrogel Oligonucleotide Microarray // *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24, No. 19. P. 14765.

Влияние варианта *p.N370S* в гене *GBA1* на молекулярный фенотип болезни Паркинсона

Яркова Е. С.

*г. Новосибирск, Новосибирский государственный университет
e.drozдова2@g.nsu.ru*

Введение. Вторым по распространенности нейродегенеративным заболеванием считается болезнь Паркинсона (БП). Она поражает 2–3 % населения старше 65 лет. Наиболее важным генетическим фактором риска БП считается ген *GBA1* (GBA-БП), мутации в котором присутствуют у 5–30 % пациентов с БП (в зависимости от этнической принадлежности). Ген *GBA1* кодирует фермент β -глюкоцереброзидазу (GCase). Основной ее функцией является расщепление сфинголипидов в лизосоме. Мутации в гене *GBA1* приводят к лизосомальной дисфункции и формированию телец Леви. Точные механизмы GBA-БП неясны, поэтому до сих пор не удается найти лекарство, которое позволит остановить прогрессирующую нейродегенерацию в среднем мозге. Для решения этих проблем необходимо создавать релевантные клеточные модели БП.

Материалы и методы. Из периферической крови двух носителей варианта *p.N370S* в гене *GBA1* выделяли мононуклеары, используя градиент фиколла. Путем репрограммирования эписомными векторами, экспрессирующими факторы плюрипотентности (OCT4, KLF4, L-MYC, SOX2, LIN28, Trp53), получали шесть линий индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК). Клетки проверяли на кариотип, маркеры плюрипотентности и потенциал дифференцировки. Дифференцировку в нейральном направлении проводили с использованием факторов роста и ингибиторов TGF- $\beta 3$, SB431542, CHIR99021, FGF-8b и др. Эффективность дифференцировки проверяли методом ИФА и количественной ПЦР, определяя маркеры производных среднего мозга. Клетки сокультивировали с 50 мкМ амброксола или 4 мкМ NCGC00241607 в течении 21 дня. Фармакологические шапероны (ФС) любезно предоставлены коллегами из НИЦ «Курчатовский институт».

Результаты исследования. Получено и охарактеризовано шесть линий ИПСК. Клетки имели нормальный кариотип, экспрессировали маркеры плюрипотентности и могли дифференцироваться в три зародышевых листка. ИПСК запущены в дифференцировку в направлении нейральных производных среднего мозга. По результатам иммунофлуоресцентного окрашивания и количественной ПЦР установлено, что культуры экспрессируют маркеры данной части мозга FOXA2, LMX1A, SOX6, OTX2. Исследование структуры популяции на более поздних стадиях дифференцировки показало наличие маркеров зрелых дофаминергических нейронов (ТН) и астроцитов. Тестирование на полученной клеточной модели амброксола и NCGC00241607 выявило, что данные соединения повышают активность GCase. При этом показано, что амброксол не влияет на экспрессию гена *GBA1* и основных генов-маркеров среднего мозга. На созданной платформе планируется изучение влияния окислительного стресса на патогенез БП, а также влияния ФШ на работу антиоксидантных систем в клетке.

Выводы. Получена клеточная модель GBA-БП и проведен скрининг потенциальных ФШ глюкоцереброзидазы. Необходимо продолжать изучение возможных влияний ФШ на внутриклеточные процессы, вовлеченные в патогенез БП.

Работа поддержана грантом РФФИ № 23-15-00224.

Список литературы

1. Grigor'eva E. V., Kopytova A. E., Yarkova E. S., Pavlova S. V., et al. Biochemical Characteristics of iPSC-Derived Dopaminergic Neurons from N370S GBA Variant Carriers with and without Parkinson's Disease // International Journal of Molecular Sciences. 2023. No. 24. P. 4437.

Раздел VI ГЕНЕТИКА В РЕПРОДУКТОЛОГИИ

Восстановление фертильности мышей с поврежденным эндометрием матки экзосомами эндометриальных мезенхимальных стволовых клеток

*Матвеева В. А., Артемьева Л. В., Селедцова Н. В., Морозов В. В.
г. Новосибирск, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН*

Введение. Успешная имплантация эмбриона и последующая беременность зависят от состояния ткани эндометрия матки. Изменения нормальной анатомии и физиологии слизистой оболочки эндометрия, наступающие чаще всего в результате воспаления, приводят к невынашиванию беременности, ее «замиранию» на ранних сроках, неудачным попыткам ЭКО. Хронический эндометрит (ХЭ), являясь воспалением матки, почти в 46 % случаев приводит к прерыванию беременности на ранних сроках из-за нарушений местного иммунного ответа, замещения железистого эпителия на простой, фиброза стромы, нарушения микроциркуляции эндометрия и его ишемии. Одним из новых подходов восстановления репродуктивной функции эндометрия может быть терапия на основе экзосом, секретируемых собственными стволовыми клетками эндометрия, биологическими свойствами которых является поддержание беременности.

Целью данной работы являлось изучение эффективности влияния внутриматочного введения экзосом мезенхимальных стволовых клеток, пролиферативного функционального слоя эндометрия на фертильность половозрелых мышей с поврежденным эндометрием матки.

Материалы и методы. В работе использовали мезенхимальные стволовые клетки, которые с письменного согласия пациентки 34 лет с диагнозом хронический эндометрит были выделены из диагностических образцов пайпель-биопсии функционального слоя эндометрия пролиферативной фазы менструального цикла. В анамнезе пациентки были выкидыши до 8–9 недель. Выделенные клетки характеризовали по критериям мезенхимальных стволовых клеток, определенных Международным обществом клеточной терапии в 2006 г. Экзосомы выделяли из бессывороточной кондиционной среды культивирования МСК методом ультрацентрифугирования. Идентификацию экзосом проводили по фенотипу методом проточной цитометрии, используя антитела к CD9, CD63 антигенам поверхности экзосом человека и методом электронной микроскопии по форме и размеру. Исследование терапевтических свойств полученных экзосом проводили на самках мышей ICR с механически поврежденными рогами матки при внутриматочном введении 20 мкг экзосом на мышь. Концентрацию экзосом определяли, используя спектрофотометр Qubit 3 и коммерческий набор Qubit Protein Assay Kit (Invitrogen, США).

Результаты. Терапевтические свойства экзосом исследовали в модельном эксперименте на мышах с асептическим воспалением рогов маток. После введения экзосом эндометриальных МСК сроки наступления беременности у самок мышей с экспериментально вызванным непродуктивным воспалением матки и фертильно здоровых самок мышей контрольной группы достоверно не отличались. Среднее количество рожденных и выживших мышат в помете самок мышей с воспалением матки после введения экзосом было больше, чем в пометах самок мышей с воспалением матки, не получавших лечение.

Выводы. Применение экзосом мезенхимальных стволовых клеток функционального слоя эндометрия восстанавливает фертильность мышей с поврежденным эндометрием матки.

Работа поддержана проектом № VI.62.2.1 базового бюджетного финансирования 2017–2020 г.

Современное генетическое сопровождение вспомогательных репродуктивных технологий

Сайфитдинова А. Ф.

г. Санкт-Петербург, Российский государственный педагогический
университет им. А. И. Герцена

г. Санкт-Петербург, Международный центр репродуктивной медицины,
saifitdinova@mail.ru

Введение. Генетические технологии сегодня позволяют не только устанавливать причины наследственных заболеваний, к которым в некоторых случаях относятся и нарушения репродуктивного здоровья, но и выявлять индивидуальные риски развития наследственной патологии. До недавнего времени для предупреждения рождения детей с наследственными заболеваниями были доступны только методы пренатальной диагностики, которые направлены на выявление патологических состояний у плода при прогрессирующей беременности. Существенными недостатками выявления моногенных и хромосомных болезней у начавшего развитие плода как на основе анализа материала, полученного в результате инвазивных процедур, так и на основе данных неинвазивного тестирования, является необходимость прерывания беременности в случае выявления генетического нарушения. Создание методов оплодотворения *in vitro* и развитие методов вспомогательных репродуктивных технологий позволили проводить исследование генома эмбриона еще до его переноса в полость матки.

Результаты. Преимплантационное генетическое тестирование (ПГТ) – это исследование наследственного материала эмбрионов, проводящееся до имплантации, для выявления генетических нарушений различной природы. На сегодняшний день ПГТ является наиболее ранним методом выявления наследственной патологии, позволяющим исключить носительство наследственной патологии у детей в семьях с высоким риском. Охарактеризованы основные направления анализа наследственного материала эмбрионов до имплантации в стенку матки. Отдельное внимание уделено различным видам ПГТ, включая: ПГТ-А, направленное на определение количественных хромосомных изменений (анеуплоидий); ПГТ-СП, направленное на выявление структурных хромосомных перестроек; ПГТ-М, направленное на диагностику моногенных заболеваний и выявление отдельных генных аллелей. Для каждого вида ПГТ приведены основные показания и ограничения на основе данных результатов современных международных научных публикаций и собственных исследований.

Список литературы

1. Корсак В. С., Балахонов А. В., Бичева Н. К., Кузнецова Р. А., Леонтьева О. А., Логинова Ю. А., Решетников И. В., Сайфитдинова А. Ф., Трофимова И. Л. Руководство по клинической эмбриологии. М. : СИМК, 2019. 224 с.

Раздел VII
ГЕНЕТИКА В КАРДИОЛОГИИ

Экзомное секвенирование для генетической диагностики семейной гиперхолестеринемии

Драчева К. В.^{1, 2}, Кусакин А. В.^{1, 3}, Изюмченко А. Д.², Глотов О. С.³,
Пчелина С. Н.², Мирошникова В. В.²

¹г. Сургут, Сургутский государственный университет,
rumts@utmn.ru

²г. Санкт-Петербург, Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И. П. Павлова,
info@Ispbgmu.ru

³г. Санкт-Петербург, Детский научно-клинический центр инфекционных болезней
федерального медико-биологического агентства,
niidi@niidi.ru

Введение. Семейная гиперхолестеринемия (СГХ) является одним из самых распространенных наследственных заболеваний в кардиологии с частотой встречаемости ~1:200–300. СГХ характеризуется повышенным риском развития сердечно-сосудистой патологии, в частности ишемической болезни сердца (ИБС). В подавляющем большинстве случаев СГХ долгое время остается недиагностированной, вплоть до развития серьезных сердечно-сосудистых осложнений. Таким образом, внедрение новых алгоритмов генодиагностики СГХ является крайне актуальным.

Материалы и методы. В настоящее время для диагностики СГХ используется таргетное NGS – секвенирование «канонических» генов, таких как *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1*, патогенные варианты в которых наиболее часто приводят к развитию данного заболевания. Частота обнаружения патогенных вариантов в данных генах варьируется в диапазоне 50–80 %, что предполагает наличие других генетических маркеров, которые еще предстоит идентифицировать. Очевидный полигенный компонент СГХ также затрудняет поиск новых генов, ассоциированных с заболеванием.

Результаты. Ряд исследований продемонстрировал эффективность полноэкзомного секвенирования как подхода для диагностики СГХ. В частности, у пациентов с СГХ было выявлено 4 новых патогенных варианта в гене *LDLR*, для которых экспериментально была установлена пониженная экспрессия белка рецептора и, соответственно, низкий уровень связывания с липопротеинами низкой плотности (ЛПНП). Предполагается, что экзомное секвенирование сможет расширить представления о генетической архитектуре СГХ, выявив новые гены и сочетания аллелей, ассоциированные с развитием заболевания. Так, полноэкзомное секвенирование разветвленной семьи с аутосомно-доминантным типом наследования СГХ позволило выявить три варианта в генах метаболизма холестерина – p.(Pro398Ala) в гене *CYP7A1*, p.(Val1382Phe) в гене *LRP6* и p.(Ser202His) в гене *LDLRAP1*, сочетание которых с большой вероятностью обуславливает развитие заболевания.

Выводы. В клинической практике пациентов с подозрением на СГХ с отрицательным результатом таргетного секвенирования «канонических» генов при наличии семейного анамнеза и при исключении причин вторичной дислипидемии следует направлять на секвенирование полного экзома. Внедрение генетического тестирования на основе экзомного секвенирования будет способствовать своевременному выбору правильной тактики лечения, проведению диагностики заболевания у членов семьи, у которых при необходимости можно было бы начинать профилактику до проявления клинических симптомов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда научно-технологического развития Югры в рамках научного проекта № 2023-123-05.

Список литературы

1. Futema M., et al. Whole exome sequencing of familial hypercholesterolaemia patients negative for LDLR/APOB/PCSK9 mutations // *Journal of medical genetics*. 2014. Vol. 51, No. 8. P. 537–544.
2. Wang J., et al. Polygenic versus monogenic causes of hypercholesterolemia ascertained clinically // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2016. Vol. 36, No. 12. P. 2439–2445.
3. Jiang L., et al. The use of targeted exome sequencing in genetic diagnosis of young patients with severe hypercholesterolemia // *Scientific reports*. 2016. Vol. 6, No. 1. P. 36823.
4. Ghaleb Y., et al. Whole exome/genome sequencing joint analysis of a family with oligogenic familial hypercholesterolemia // *Metabolites*. 2022. Vol. 12, No. 3. P. 262.

Путь от поиска генетической предрасположенности к развитию заболеваний до разработки терапии

Карпова Н. С., Нурбеков М. К., Дмитренко О. П., Терехина О. Л.
г. Москва, Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии,
nataliialarpova.sp@gmail.com

Введение. Развитие геномных технологий произвело революцию в медицине и здравоохранении. Открытие причин развития ряда генетических заболеваний, например, фенилкетонурии, позволило проводить их коррекцию с помощью диетического лечения и добавок.

К наиболее частым осложнениям беременности относятся гестационный сахарный диабет (ГСД) и преэклампсия (ПЭ). Частота ПЭ при ГСД (7,3 %) выше, чем в популяции (4,5 %). При этих осложнениях беременности основным патофизиологическим фактором является дисфункция эндотелия сосудов, которая находится под генным контролем. I/D полиморфизм расположен в 16-м интроне гена *ACE*. Данный полиморфизм повышает риск развития таких заболеваний как ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, инсульт, сахарный диабет 2-го типа, преэклампсии. Целью данной работы являлось выявление генетической предрасположенности на примере анализа ассоциации I/D полиморфизма с факторами риска развития ПЭ.

Материалы и методы. Выделение ДНК осуществляли с помощью фенол-хлороформной экстракции из венозной крови 155 беременных женщин с ГСД, которые находились под наблюдением и родили в 2018–2021 гг. в родильном отделении Больницы им. Н. Э. Баумана, г. Москва. Наличие I/D полиморфизма гена *ACE* оценивали с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Результаты. Показана статистически значимая ассоциация между DD генотипом I/D полиморфизма гена *ACE* с таким фактором риска, как АГ в рецессивной (ОШ = 3,39; $p = 0,01330$), кодоминантной (ОШ = 4,29; $p = 0,03490$) и лог-аддитивной (ОШ = 2,07; $p = 0,01382$) моделях наследования.

Выводы. Выявлена взаимосвязь между DD и ID генотипами I/D полиморфизма гена *ACE* и АГ, которая увеличивает риск развития преэклампсии. Выявление предрасположенности является первой ступенью к поиску стратегий таргетной терапии. Генетический риск развития артериальной гипертензии, обусловленный I/D полиморфизмом гена *ACE*, может быть нивелирован низким потреблением натрия и/или высоким содержанием калия. Развивающиеся методы геномного редактирования дают надежду на коррекцию негативного генетического фона для предотвращения развития патологий.

Список литературы

1. Al Hafid N., Christodoulou J. Phenylketonuria: a review of current and future treatments // *Translational pediatrics*. 2015. Vol. 4, No. 4. P. 304.
2. Dmitrenko O. P., Karpova N. S., Nurbekov M. K., Papysheva O. V. I/D polymorphism gene ACE and risk of preeclampsia in women with gestational diabetes mellitus // *Disease Markers*. 2020.
3. Dengel D. R., Brown M. D., Ferrell R. E., Supiano M. A. Role of angiotensin converting enzyme genotype in sodium sensitivity in older hypertensives // *American journal of hypertension*. 2001. Vol. 14, No. 12. P. 1178–1184.
4. Birhan T. A., Molla M. D., Abdulkadir M., Tesfa K. H. Association of angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphisms with risk of hypertension among the Ethiopian population // *PLoS One*. 2022. Vol. 17. No. 11. P. e0276021.

Геномные исследования для диагностики дислипидемий

Мирошникова В. В.^{1,2}, Пчелина С. Н.^{1,2}

¹г. Санкт-Петербург, Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И. П. Павлова,

²г. Санкт-Петербург, Петербургский институт ядерной физики
им. Б. П. Константинова

НИЦ «Курчатовский институт»

v.v.mirosh@gmail.com, sopchelina@hotmail.com

Введение. Выявление в структуре дислипидемий наследственной патологии определяет тактику лечения пациента. Нарушения липидного спектра могут быть обусловлены патогенными вариантами широкого спектра генов, связанных с обменом липопротеинов, поэтому оптимальной стратегией дифференциальной диагностики наследственных дислипидемий являются геномные исследования с использованием методов массового параллельного секвенирования (NGS).

Материалы и методы. Разработана оригинальная NGS-панель, включающая 39 генов, для диагностики дислипидемий методом таргетного секвенирования. Методика апробирована на 26 пациентах с нарушениями липидного обмена, в первую очередь, с семейной гиперхолестеринемией (СГХ).

Результаты. С использованием созданной панели установлен генетический диагноз СГХ, обусловленной патогенными вариантами в генах рецептора липопротеинов низкой плотности и аполипопротеина В (*LDLR* и *APOB*, соответственно). Выявлено также редкое аутосомно-рецессивное заболевание «ситостеролемия». Данный случай представляет особый интерес, поскольку дифференциальная диагностика между СГХ и ситостеролемией представляет сложность в силу идентичных изменений липидограммы и наличия ксантом, при этом она очень важна для выбора основной тактики лечения и диетотерапии. Заболевание было выявлено у девочки 6 лет. Показано, что в данном случае заболевание было обусловлено носительством патогенных вариантов в гене транспортера *ABCG8* (компаундная гетерозигота p.Leu572Pro/p.Gly512Arg; мать и сестра пробанда носители варианта p.Gly512Arg). Дальнейшее биохимическое обследование, выполненное в МГНЦ им. академика Н. П. Бочкова, показало, что уровень растительных стеролов (фитостеролов) в крови пробанда составил 28,3 и 12,4 микро-моль/л для ситостерола и кампестерола соответственно. Следует отметить, что использование расширенной NGS-панели с включением генов, кодирующих транспортеры *ABCG5* и *ABCG8*, позволило установить верный диагноз. В ряде случаев ситостеролемия долгое время маскируется под СГХ. Установление диагноза «ситостеролемия» в раннем возрасте дает возможность

назначения диеты с ограничением растительных жиров, что в будущем позволит избежать преждевременного развития сердечно-сосудистых заболеваний и других осложнений.

Выводы. Проведение генетического исследования с использованием разработанной NGS-панели позволило выявить случай редкого аутосомно-рецессивного заболевания ситостеролемиа. Описанный случай подчеркивает значимость использования расширенных NGS-панелей для постановки верного диагноза при диагностике дислипидемий.

Исследование выполнено при поддержке программы Министерства науки и образования РФ «Приоритет–2030» (Соглашение № 075-15-2023-132 от 14 февраля 2023 г.).

Научное издание

ОТ РОЖДЕНИЯ ДО АКТИВНОГО ДОЛГОЛЕТИЯ
Тезисы докладов II Международного форума геномных и биомедицинских технологий
г. Сургут
30.11.2023–02.12.2023

Сборник

Научный редактор:
доктор биологических наук Грядунов Дмитрий Александрович

Редактор Л. И. Манаева

Верстка Е. А. Мельниковой

Подписано в печать 13.02.2024. Формат 60 × 84/8
Усл. печ. л. 6,5. Уч.-изд. л. 5,2. Заказ 24. Тираж 35

Оригинал-макет подготовлен
в Издательском центре СурГУ
Тел. (3462) 76-31-79

БУ ВО «Сургутский государственный университет»
628400, Россия, Ханты-Мансийский автономный округ – Югра,
г. Сургут, пр. Ленина, 1
Тел. (3462) 76-31-00